

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Barbora Podestátová

Patologická aktivace STAT3 signální dráhy u nádorových a virových onemocnění

Pathologic STAT3 signalling pathway activation in cancer and viral diseases

Bakalářská práce

Vedoucí práce: RNDr. Milan Reiniš, CSc.

Praha, 2021

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat vedoucímu, RNDr. Milanu Reinišovi, CSc., za rady, ochotu a pomoc při psaní mé bakalářské práce.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 5. května 2021

Jméno: Barbora Podestátová

Podpis:

Abstrakt

STAT3 je jedním ze sedmi proteinů rodiny STAT, který je schopný přenášet signál do jádra, kde po navázání na specifické sekvence DNA působí jako transkripční faktor. Za fyziologických podmínek STAT3 reguluje geny spojené s řadou funkcí, jako jsou buněčná proliferace, diferenciace, apoptóza nebo imunitní odpověď. V případě patologických podmínek může být STAT3 deregulován nebo konstitutivně aktivován, což může ve výsledku vést ke kancerogenezi. Během tohoto procesu je STAT3 často aktivován přímo v nádorových buňkách, ve kterých působí tumorigenně. STAT3 je také spojován se zánětlivými reakcemi, kterých se účastní imunitní buňky, které se spolu s nádorovými a stromálními buňkami podílí na zformování nádorového mikroprostředí. Role STAT3 je potřebná i při boji s virovou infekcí, nicméně pokud dojde k jeho aberantní aktivaci, může vést k chronickým onemocněním, včetně rakoviny. Kvůli těmto závažným rolím během patogenese je STAT3 předmětem výzkumu různých inhibitorů, které buď inhibují přímo molekulu STAT3 nebo nepřímo některou ze složek jeho signální dráhy.

Abstract

STAT3, one of the seven members of STAT protein family, is able to transduce signal into the nucleus, where it binds to specific DNA sequences and acts as a transcription factor. Under physiological conditions, STAT3 regulates genes associated with number of functions such as cell proliferation, differentiation, apoptosis or immune response. In the case of pathological conditions, STAT3 can be dysregulated or constitutively activated, which may result in cancerogenesis. During this process, STAT3 is frequently activated directly in tumor cells where it acts tumorigenically. STAT3 is also associated with inflammatory reactions mediated by immune cells, which along with tumor and stromal cells are involved in the formation of the tumor microenvironment. The role of STAT3 is also important in the fight against viral infections, and when STAT3 activated aberrantly, it can lead to chronic diseases, including cancer. Due to these serious roles during pathogenesis, STAT3 is the subject of research of various inhibitors that either directly inhibit the STAT3 molecule function or indirectly any of the components of its signaling pathway.

Klíčová slova

STAT3, IL-6, nádorové mikroprostředí, imunosuprese, virové infekce, COVID-19

Keywords

STAT3, IL-6, tumor microenvironment, immune suppression, viral infections, COVID-19

Obsah

1. Úvod	1
2. STAT3 signální dráha a její regulace	2
2.1. STAT proteiny	2
2.2. Definice, objev, výskyt a struktura STAT3	2
2.3. Posttranslační modifikace	3
2.4. Mechanismy aktivace a transport STAT3	4
2.5. IL-6 jako hlavní aktivátor STAT3	5
2.6. STAT3 jako transkripční faktor a geny, které reguluje	6
2.7. Regulace STAT3 signální dráhy	8
3. Mechanismy a dopady aberantní aktivace STAT3 v kancerogenezi	9
3.1. Mechanismy vedoucí ke konstitutivní aktivaci STAT3	9
3.2. Chronický zánět vede ke kancerogenezi	11
3.3. Nádorové mikroprostředí	13
3.4. STAT3 jako onkogen vs. STAT3 jako onkosupresor	15
4. STAT3 aktivace v imunitní odpovědi na virovou infekci a její negativní důsledky	15
4.1. Provirové a antivirové molekulární mechanismy STAT3	16
4.2. STAT3 v imunitní odpovědi a důsledek jeho patologické regulace u vybraných virových infekcí	18
4.3. SARS-Cov-2, COVID-19 a STAT3	19
5. Terapeutický potenciál farmakologického ovlivnění STAT3 signální dráhy	20
6. Závěr	22
7. Literatura	25

Seznam zkratek

AIDS	aquired immunodeficiency syndrome
AMK	aminokyselina
APFR	acute phase response factor
Arg-1	arginase 1
ATP	adenosinetriphosphate
bb.	buňky
BSF-2	B-lymphocyte stimulating factor
CAF	cancer associated fibroblast
CCD	coiled-coil domain
CCL5	C-C motif chemokine ligand 5
DC	dendritic cells
CIS	cytokine inducible SH2-containing protein
CLCF	cardiotrophin-like cytokine factor
CNF	ciliary neutrophic factor
COVID-19	coronavirus disease 2019
CRP	C-reactive protein
CT-1	cardiotrophin-1
CXCL1	C-X-C motif chemokine ligand 1
DBD	DNA-binding domain
DNA	deoxyribonukleová kyselina
EBV	Epstein-Barr virus
ECM	extracellular matrix
EGF	epidermal growth factor
EGFR	epidermal growth factor receptor
EGFRvIII	epidermal growth factor receptor type III variant
EPO	erythropoetin
ERK	extracellular signal-regulated kinase
ESFT	Ewing sarcoma family tumors
EZH2	enhancer of zeste homolog 2
FSP1	fibroblast-specific protein 1
GM-CSF	granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
gp130	glycoprotein130

GPCR	G-protein coupled receptor
GTP	guanosinetriphosphate
HBV	hepatitis B virus
HCC	hepatocellular carcinoma
HCMV	human cytomegalovirus
HCV	hepatitis C virus
HEV	hepatitis E virus
HGF	hepatocyte growth factor
HIF-α	hypoxia inducible factor α
HIV	human immunodeficiency virus
HNF-3	hepatocyte nuclear factor 3
HNSCC	head and neck squamous cell carcinoma
HSV-1	herpes simplex virus 1
IAV	influenza A virus
IFN	interferon
IL	interleukin
IL-6R	interleukin-6-receptor
islet-1	insulin gene enhancer protein ISL-1
JAB	JAK-binding protein
JAK	Janus kinase
KSHV	Kaposi's sarcoma herpesvirus
LD	linker domain
LIF	leukemia inhibitory factor
LSD1	lysine-specific histone demethylase
MDSC	myeloid-derived suppressor cells
MEKK-1	MEK kinase 1
mIL-6R	membrane interleukin-6-receptor
MIP-1	macrophage inflammatory protein
miRNA	microRNA
MM	multiple myeloma
MMP-9	matrix metalloproteinase 9
mRNA	messenger RNA
např.	například
NB	neuroblastoma

NF-κB	nuclear factor κB
NK	natural killer
NLS	nuclear localization signal
NOS	nitric oxide synthase
NSCLC	non-small cell lung cancer
NSP1	non-structural protein 1
NTD	N-terminal domain
OSM	oncostatin M
p19^{ARF}	ARF tumor suppressor
PDGF	platelet-derived growth factor
PIAS	protein inhibitor of activated STAT3
PRL	prolactin
PTEN	phosphatase and tensin homolog
pTyr705	phosphorylated tyrosine 705
Ran	Ras-related nuclear protein
RANTES	regulated upon activation, normal T cells expressed and secreted
RBD	receptor-binding domain
RMS	rhabdomyosarcoma
RNA	ribonukleová kyselina
ROS	reactive oxygen species
RTK	receptor tyrosinová kináza
S1P	sphingosin-1-fosfát
SARS-Cov	severe acute respiratory syndrome-related coronavirus
SDF1	stromal-cell derived factor 1
SET9	set domain-containing lysin methylase
SH2	Src-homology 2
SHP	Src homology 2 domain-containing protein tyrosine phosphatase
sIL-6R	soluble interleukin-6-receptor
siRNA	small interfering RNA
SOCS	suppressor of cytokine signalling
SSI	STAT-induced STAT inhibitor
STAT	signal transducer and activator of transcription
Stattic	STAT three inhibitory compound
TAD	transactivating domain

TAM	tumor associated macrophage
TAN	tumor associated neutrophils
TC-PTP	T cell protein tyrosine phosphatase
TGF-β	tumor growth factor β
Th	T-helper cells
TNF-α	tumor necrosis factor α
TPO	thrombopoietin
TYK2	tyrosine kinase 2
uSTAT3	unphosphorylated STAT3
VEGF	vascular endothelial growth factor
vs.	versus

1. Úvod

Proteiny rodiny STAT neboli signal transducer and activators of transcription byly objeveny v první polovině 90. let 20. století a každý z nich hraje v našem organismu důležitou roli pomocí regulace svých cílových genů. Ve své práci se konkrétně zaměřuji na molekulu STAT3, která byla původně objevena jako protein reakce akutní fáze a až později identifikována jako součást této proteinové rodiny na základě různých strukturních podobností. Rozlišujeme kanonickou STAT3 signální dráhu, jejíž aktivace je závislá na fosforylaci na Tyr705 a nekanonickou signální dráhu nezávislou na této fosforylaci a STAT3 v obou typech signalizace vykonává různé a neméně důležité funkce. V kanonické dráze je STAT3 transportován do jádra a je spjat s ději jako buněčná proliferace, diferenciace, regulace angiogeneze, apoptózy a různých imunitních mechanismů. STAT3 v nekanonické dráze je např. transportován do mitochondrií, kde reguluje elektrontransportní řetězec. Posttranslační modifikace mohou STAT3 obohatit o různé vlastnosti, jako je zvýšená transkripční aktivita, ale mohou sloužit i jako forma regulace jeho aktivity. Různým mechanismům regulace se dále v textu také věnuji. STAT3 může být aberantně regulován a aktivován a přispívat tak ke vzniku patologií, včetně rakoviny. V poslední době se hovoří, že vznik rakoviny je také spojen s chronickým zánětem. V místě zánětu dochází k indukci kancerogeneze a ke vzniku nádorového mikroprostředí, ve kterém je díky neustálé produkci cytokinů a složkám imunitního systému udržován zánětlivý stav. STAT3 je často konstitutivně aktivovaný v nádorových buňkách, kde zprostředkovává funkce jako je např. zvýšená proliferace a angiogeneze, unikání apoptóze, neomezená možnost replikace, invazivita a metastázování. V závislosti na podmínkách, jako je např. genetické pozadí, může ale STAT3 vykazovat i tumor-supresivní funkce. Jedním z mnoha podnětů pro vznik rakoviny a dalších patologií je infekce různými viry. STAT3 s viry interaguje různými mechanismy, které ve výsledku vedou buď k jeho aktivaci anebo inhibici a podílí se taky na imunitních reakcích proti virům, některé příklady jsou v práci uvedeny. Více dopodrobna je rozebrán, vzhledem k aktuálnosti, virus SARS-Cov-2 způsobující onemocnění COVID-19. Na konci práce je prostor věnován terapeutickému potenciálu inhibice STAT3 a jednotlivé inhibitory jsou rozdělené podle původu na syntetizované a přírodní, podle chemické struktury na peptidy, oligonukleotidy, malé molekuly a protilátky a podle místa účinku na přímé, které inhibují některou z domén molekuly STAT3, anebo nepřímé, které jsou zaměřeny upstream a downstream STAT3.

2. STAT3 signální dráha a její regulace

2.1. STAT proteiny

STATs neboli signal transducers and activators of transcription jsou rodina proteinů fungující jako přenašeči signálu a transkripční faktory, které hrají důležitou a nezbytnou roli v řadě fyziologických buněčných procesů v těle. Jednotlivé funkce členů jsou shrnuty v **Tabulce 1**. STAT proteiny byly objeveny v roce 1994, kdy došlo k identifikaci jednotlivých členů jako klíčových proteinů v cytokinové signalizaci (Wegenka *et al.*, 1994). Dodnes bylo u člověka identifikováno sedm členů této proteinové rodiny – **STAT1**, **STAT2**, **STAT3**, **STAT4**, **STAT5a**, **STAT5b** a **STAT6**, které jsou kódovány různými geny nacházející se na různých chromozomech (Copeland *et al.*, 1995) (James E Darnell, 1997).

Tabulka 1: STAT proteiny – aktivace* (Takeda and Akira, 2000) a funkce

STAT protein	Aktivace	Funkce	Publikace
STAT1	IFN- α , IFN- β , IFN- γ *	regulace antivirových, antiproliferativních a imunitních odpovědí, zprostředkování apoptické buněčné smrti	(Darnell, Kerr and Stark, 1994), (Battle and Frank, 2005), (Varinou <i>et al.</i> , 2005)
STAT2	IFN- α , IFN- β *	regulace antivirových, antiproliferačních a imunomodulačních procesů, tumorsupresivní účinky	(Domanski <i>et al.</i> , 1997) (Park <i>et al.</i> , 2000) (Yue <i>et al.</i> , 2015)
STAT4	IL-12*	mediátor prozánětlivé imunitní odpovědi	(Thierfelder <i>et al.</i> , 1996)
STAT5a, STAT5b	IL-2, IL-7, IL-15, IL-3, GM-CSF, PRL, EPO, TPO*	regulace vývoje mléčné žlázy, laktogeneze nebo různých imunologických funkcí, konstitutivní aktivace vede ke kancerogenezi	(Liu, Robinson <i>et al.</i> , 1997) (Teglund <i>et al.</i> , 1998) (Xi <i>et al.</i> , 2003)
STAT6	IL-4, IL-13*	regulace vývoje pomocných Th 2 lymfocytů	(Kaplan <i>et al.</i> , 1996)

2.2. Definice, objev, výskyt a struktura STAT3

STAT3 byl objeven před více než dvaceti lety jako faktor reakce akutní fáze (APRF) aktivovaný IL-6 a až poté byl identifikován jako STAT3 a zařazen mezi proteiny rodiny STAT na základě podobností ve velikosti, struktuře a schopnosti navázat se na DNA (Zhong, Wen and Darnell, 1994) (Lütticken *et al.*, 1994). STAT3, stejně jako ostatní proteiny rodiny STAT, je schopný přenášet signál v buňce a fungovat jako transkripční faktor. V latentní formě se nachází v cytoplasmě, kde dochází k jejich fosforylaci, dimerizaci a následně k translokaci do jádra, kde působí jako transkripční faktor (Haan *et al.*, 2000). STAT3 se skládá ze 770 aminokyselin (Lerner *et al.*, 2003) a obsahuje, jako i ostatní STAT proteiny, několik strukturně a funkčně konzervovaných oblastí a to **N-terminální doménu (NTD)**, **coiled-coil doménu (CCD)**, **DNA-vázací doménu (DBD)**, **linker doménu (LD)**, **SH2 doménu** a **transaktivační doménu (TAD)**. **NTD** zastává tři hlavní funkce. Zprv zprostředkuje tetramerizaci

pSTAT3, které tvoří kooperativní vazbu sloužící k rozpoznání i slabších vazebných míst na DNA, kde se díky tomu vytvoří stabilnější komplex STAT3-DNA (Zhang and Darnell, 2001). Zadruhé umožňuje dimerizaci nefosforylovaných STAT3 (uSTAT3) molekul, což je nezbytné pro jejich správnou akumulaci v jádře (Pranada *et al.*, 2004), navázání DNA (Timofeeva *et al.*, 2012), remodelaci chromatinu (Timofeeva *et al.*, 2012) (Zhao *et al.*, 2013) a také pro regulaci genové exprese (Timofeeva *et al.*, 2013). Zatřetí se STAT3 pomocí **NTD** může vázat na další proteiny, čímž dojde ke vzniku komplexů, které se uplatňují např. při regulaci transkripce, což je ale podmíněno některou z posttranslačních modifikací (Ray, Boldogh and Brasier, 2005) (Hossain *et al.*, 2013). **CC** doména je nezbytná pro transport do jádra, protože pravděpodobně obsahuje jaderný lokalizační signál (NLS) (Ma *et al.*, 2003). **DBD** se také podílí na transportu do jádra, jelikož se tam nachází druhá naváděcí sekvence (Ma *et al.*, 2003), ale hlavně je zodpovědná za rozpoznání specifické sekvence na DNA, navázání a za tvorbu komplexu STAT3-DNA (Furtek *et al.*, 2016) a je také schopná tvořit interakce s dalšími transkripčními faktory (Yu and Kone, 2004). **LD** do určité míry komunikuje s DBD a SH2 doménou, ovlivňuje navázání na DNA a aktivaci transkripce (Mertens *et al.*, 2015). **SH2** doména je zásadní pro navázání na fosfotyrosinové zbytky na receptorové kináze, dojde k fosforylaci STAT3 právě pomocí této kinázy, což vede k dimerizaci STAT3 (James E Darnell, 1997). Poslední doménou je **TAD**, doména nacházející se v C-terminální oblasti, která obsahuje fosforylační místo Ser727, jehož fosforylace zvyšuje transkripční aktivitu STAT3 (Zhang *et al.*, 1998).

2.3. Posttranslační modifikace

STAT3 je **fosforylován** na **Tyr705** pomocí různých kináz, což umožní dimerizaci a transport do jádra (zmíněno ve 2.4), dále na **Ser727** pomocí ERK1/2 (Chung *et al.*, 1997), p38 (Turkson *et al.*, 1999) nebo JNK (Turkson *et al.*, 1999) (Lim and Cao, 1999), kdy tato fosforylace napomáhá zvyšovat transkripční aktivitu (Wen, Zhong and Darnell, 1995), ale sama o sobě není schopná zprostředkovat transport do jádra (Gotoh *et al.*, 1996). Většinou je se **Ser727 fosforylován i Thr714**, čímž se také zvyšuje transkripční aktivita STAT3 (Waitkus *et al.*, 2014). Vedle fosforylace probíhá i **defosforylace** pomocí fosfatáz (zmíněno ve 2.5.) a další posttranslační modifikace. STAT3 může podléhat také **acetylaci** pomocí histonacetyltransferázy **p300**, která přidává acetylový zbytek na lysin **K685** na C-konci, čímž podporuje tvorbu dimerů, což je nezbytné hlavně u nefosforylovaných dimerů STAT3 (Ogryzko *et al.*, 1996) (Paulson *et al.*, 1999) (Wang, Cherukuri and Luo, 2005). Také se ukázalo, že acetylovaný STAT3 se váže na DNA pevněji než neacetylovaný (Wang, Cherukuri and Luo, 2005). K **acetylaci** pomocí **p300** dochází v odpovědi na IL-6 i na N-konci STAT3 na **K49** a **K87**, kde dochází i k **deacetylaci** histondeacetylázou (**HDAC**), která snižuje afinitu mezi STAT3 a p300 (Ray, Boldogh and Brasier, 2005). V odpovědi na IL-6 dochází i k **methylovaní**. Methylován je lysin **K140** pomocí methyltransferázy **SET9**, která blokuje STAT3, aby se navázal na DNA, a **demethylován** je demethylázou

LSD1. Byla také vyvinuta **mutace v K140**, kdy nedochází k methylaci a je tak prodloužena transkripční aktivita STAT3 (Yang *et al.*, 2010). STAT3 může být **methylován** i na **K180** působením histonlysine methyltransferázy **EZH2**, což zvyšuje aktivaci STAT3 a pravděpodobně zvyšuje fosforylaci tyrosinu tím, že brání defosforylaci (Kim *et al.*, 2013). Na cysteinu **C328** a **C542** v DBD a LD může dojít k **S-gluthationylaci**, což narušuje tyrosinovou fosforylaci STAT3 (Butturini *et al.*, 2014). STAT3 dále podléhá i **polyubikvitinaci** a **degradaci v proteazomu 26S**, čímž je úplně narušena transkripční aktivita STAT3 (Daino *et al.*, 2000).

2.4. Mechanismy aktivace a transport STAT3

STAT3 se jako inaktivovaný nachází v cytoplazmě, buď ve formě monomerů nebo nefosforylovaných dimerů (Novak *et al.*, 1998), kde posléze dochází i k jeho aktivaci pomocí různých cytokinů, růstových faktorů nebo hormonů a dodnes bylo objeveno několik způsobů, jak může být STAT3 aktivován (Darnell, 1997). Prvním způsobem je **JAK/STAT3 cytokinová signalizační dráha**, kdy nejprve dochází k navázání ligandu na cytokinový receptor, což způsobí oligomerizaci těchto receptorů, se kterými následně asociují JAK kinázy (JAK1, JAK2, JAK3, TYK2), které jsou po navázání ligandu aktivovány, fosforylovány a ty poté trans-fosforylují tyrosinové zbytky v cytoplazmatické doméně cytokinového receptoru, kam se kotví STAT3 pomocí SH2 domény, aby JAK kinázy mohly fosforylovat Tyr705 ve STAT3 molekule (Leonard, 2001) (Rawlings, Rosler and Harrison, 2004). K aktivaci dochází i pomocí **růstových faktorů** jako jsou EGF (David *et al.*, 1996), PDGF (Vignais *et al.*, 1996) nebo CSF (Novak *et al.*, 1995), které se váží na receptory s vlastní kinázovou aktivitou a které jsou tak schopné fosforylovat STAT3 přímo anebo nepřímo pomocí JAK kináz (Garcia *et al.*, 2001). Dalšími aktivátory STAT3 jsou **receptory spřažené s G-proteiny**, což jsou například receptor pro serotonin 5-HT_{2A} (Guillet-Deniau, Burnol and Girard, 1997) nebo chemokinové receptory MIP-1 a RANTES, které aktivují STAT3 v T-buňkách (Wong and Fish, 1998). Dále mohou aktivaci zprostředkovat i **proteiny sloužící jako adaptory pro JAK kinázy**, jako jsou MEKK-1 nebo islet-1, které navádějí STAT3 do jejich těsné blízkosti (Lim and Cao, 2001) (Hao *et al.*, 2005). K aktivaci STAT3 dochází i pomocí **nereceptorových tyrosin kináz**, které zahrnují i virové onkoproteiny, jako v-Src, v-Fps, v-Sis nebo v-Abl (Yu *et al.*, 1995) (Danial, Pernis and Rothman, 1995) (Garcia *et al.*, 1997). Všechny tyto mechanismy nakonec vedou k fosforylaci Tyr705 na STAT3, díky které dojde k dimerizaci, kdy pTyr705 jedné STAT3 molekuly interaguje s SH2 doménou druhé STAT3 molekuly, což vede ke vzniku homo- nebo heterodimerů (Leonard, 2001) (Rawlings, Rosler and Harrison, 2004). Tyto typy mechanismů aktivace a signalizace označujeme jako **kanonické**, protože se využívá pSTAT3, ale rozlišujeme i **nekanonický** typ signalizace. V tomto případě se STAT3 vyskytuje v cytoplazmě ve formě komplexů, které se nazývají statozomy a tvoří je dimery a vyšší celky, jejichž poskládání, transport do jádra a následné působení je nezávislé na cytokinové signalizaci a fosforylaci Tyr705 STAT3 (Ndubuisi *et al.*, 1999) (Haan *et al.*, 2000). V případě **nekanonické**

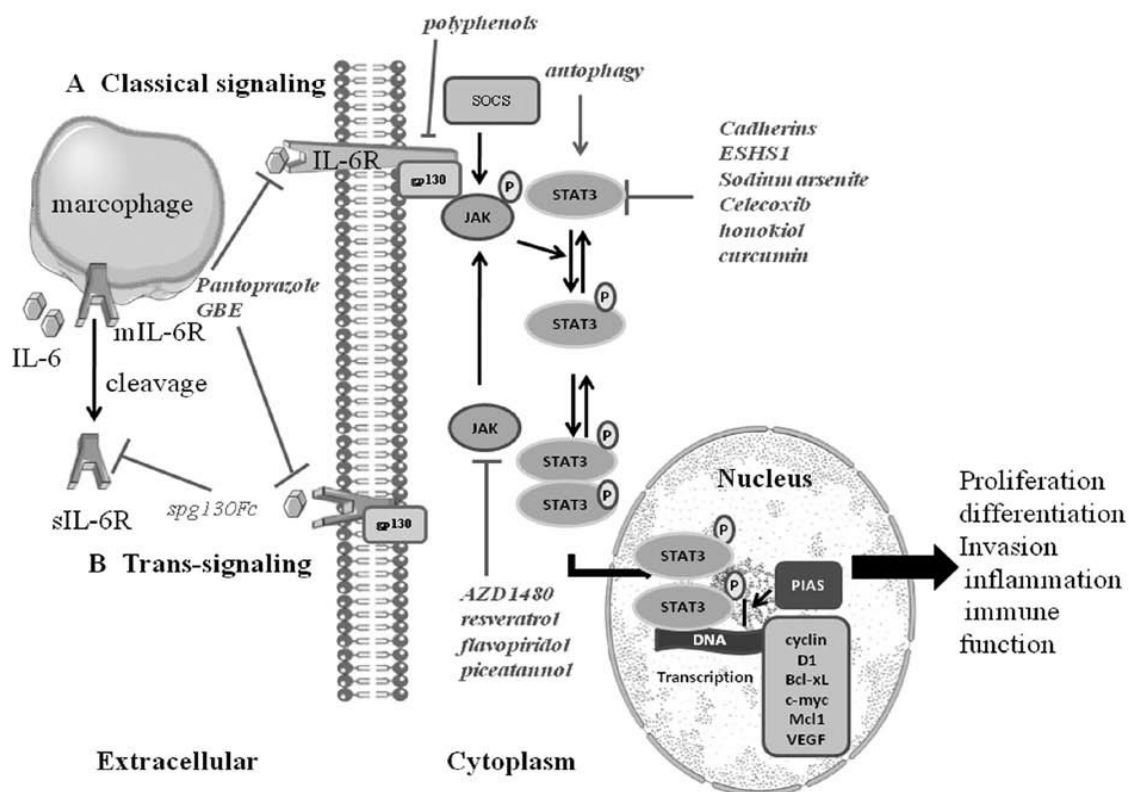
dráhy je STAT3 transportován do mitochondrií a tento transport může probíhat díky fosforylaci na Ser727, ke které dochází v cytosolu (Guanizo *et al.*, 2018). V **kanonické** dráze je STAT3 transportován do jádra a transport je uskutečňován receptory zprostředkovanou endocytózou, která je aktivována v odpovědi na růstové hormony, které se váží na své receptory na cytoplazmatické membráně, čímž dojde ke sbalení jak STAT3, tak komplexu růstového hormonu a jeho receptoru do endocytotického váčku, který je posléze transportován od cytoplazmatické membrány, přes cytosol, až do perinukleárního prostoru jádra (Bild, Turkson and Jove, 2002). Do jádra je dopraven skrze jaderné póry, které se nacházejí v jaderné obálce. Transportu napomáhají ještě další proteiny a to importiny a malá GTPáza Ran. Importiny α a β spolu tvoří heterodimer, kdy importin α rozeznává NLS sekvence STAT3 a importin β je zodpovědný za kontakt s jaderným pórem a dohromady vytváří komplex STAT3/importin α,β , který je skrze jaderný pór transportován (Görllich and Kutay, 1999) (Ushijima *et al.*, 2005). V jádře se nachází Ran-GTP, který se naváže na importin β v komplexu STAT3/importin α,β , dochází k jeho hydrolýze a komplex se v důsledku toho rozpadne (Ohno, Fornerod and Mattaj, 1998) (Görllich and Kutay, 1999) (Jans, Xiao and Lam, 2000).

2.5. IL-6 jako hlavní aktivátor STAT3

Interleukin-6 (IL-6) patří do skupiny cytokinů s pleiotropním a redundantním účinkem. Je produkován různými typy buněk a tkání, jako jsou např. epidermální buňky (Luger *et al.*, 1989), hepatocyty (Gauldie *et al.*, 1987), fibroblasty (Chomarat *et al.*, 2000), chondrocyty (Shi *et al.*, 2004) a další. Poprvé byl objeven v roce 1976 jako rozpustný protein produkováný T-lymfocyty, který aktivuje diferenciaci B-lymfocytů, a proto byl pojmenován jako B-lymfocyty stimulující faktor 2 (BSF-2) (Kishimoto and Ishizaka, 1976). Následně byl objeven ve fibroblastech (Haegeman *et al.*, 1986) (Zilberstein *et al.*, 1986) nebo jako hepatocyty stimulující faktor (Gauldie *et al.*, 1987) a až v roce 1988 byl pojmenován jako IL-6. Do IL-6 rodiny cytokinů patří i **IL-11** (Paul *et al.*, 1990), **OSM** (Malik *et al.*, 1989), **LIF** (Gearing *et al.*, 1987), **CT-1** (Pennica *et al.*, 1995), **CNF** (Bazan, 1991), **CLCF** (Vlotides *et al.*, 2004), **IL-27** (Pflanz *et al.*, 2002), **IL-35** (Niedbala *et al.*, 2007) a **IL-39** (Wang *et al.*, 2016). IL-6 se skládá ze 184 aminokyselin (Hirano *et al.*, 1986) a váže se na receptor specifický pro IL-6, na **IL-6R**, který existuje ve dvou formách. První je membránový receptor (**mIL-6R**), který se může odštěpit od buněčného povrchu, aby mohl poskytnout rozpustnou formu IL-6R (**sIL-6R**), což je druhá forma tohoto receptoru (Mackiewicz *et al.*, 1992). IL-6 se naváže na **mIL-6R** nebo **sIL-6R** a spolu se pak pojí ke gp130, což je receptorový membránový glykoprotein umožňující přenos signálu do buňky (Taga *et al.*, 1989). IL-6 zprostředkovává signalizaci **klasickou** nebo **trans-signalizační cestou** (viz **Obr. 1**). IL-6 se díky svému pleiotropnímu účinku podílí na množství dějů probíhajících v těle, např. se účastní diferenciaci B-lymfocytů (Hirano *et al.*, 1985), indukce proteinů akutní fáze v játrech (Gauldie *et al.*, 1987), podílí

se na spuštění proliferace a diferenciace T-lymfocytů (Rincón *et al.*, 1997) nebo na diferenciaci monocytů v makrofágy (Chomarat *et al.*, 2000).

Obr. 1: Dráhy signalizace IL-6 – převzato z (Wang and Sun, 2014)



2.6. STAT3 jako transkripční faktor a geny, které reguluje

Jakmile se STAT3 nachází v jádře, váže se na určité sekvence v DNA a působí jako transkripční faktor, který stimuluje a v některých případech potlačuje transkripci cílových genů. Díky tomu zprostředkovává různé fyziologické funkce. STAT3 se v **nekanonické** dráze podílí na regulaci genů (Lee *et al.*, 2012). Ovlivňuje cytoskeletální proteiny, např. když jako konstitutivně aktivovaný reguluje migraci nádorových buněk (Azare *et al.*, 2007) a v mitochondriích reguluje komplexy v elektrontransportním řetězci (Wegrzyn *et al.*, 2009). STAT3 jako součást **kanonické** signální dráhy pomáhá zprostředkovat buněčnou proliferaci, diferenciaci, reguluje apoptózu, angiogenezi, některé imunitní funkce a další, a pokud je STAT3 konstitutivně aktivován, účastní se procesů spjatých se zánětem indukujícím tvorbu nádoru, napomáhá proliferaci, přežití a metastazování nádorových buněk (Hirano, Ishihara and Hibi, 2000) (McLemore *et al.*, 2001) (Niu *et al.*, 2002) (Laouar *et al.*, 2003) (Wei *et al.*, 2003) (Kujawski *et al.*, 2008). Takeda *et al.* dokázali, že STAT3 má roli i v embryogenezi, protože myši pozbývající STAT3 umíraly již během časně embryogeneze (Takeda *et al.*, 1997). Cílové geny STAT3 jsou uvedeny v **Tabulce 2**, kde jsou rozděleny podle funkce a také podle toho, zda podporují nebo potlačují nádor.

Tabulka 2: Cílové geny STAT3 - převzato z (Carpenter and Lo, 2014)

Cílový gen STAT3	Vazebné místo STAT3	Buňka/Tkáň	Živočišný druh
A) STAT3 cílové geny podporující nádor			
Transkripční faktory			
↑ <i>c-Fos</i>	-348 až -339 bp	HepG2, A431 bb.	člověk
↑ <i>HIF-1α</i>	-363 až -355 bp	A2058, v-Src-3T3 bb., B16 nádory	člověk, myš
↑ <i>c-Myc</i>	+84 až +115 bp	HepG2, BAF-G277, KT-3, CCE ES bb.	člověk, myš
↑ <i>Sox2</i>	-5.7 až -3.3 bp -528 až +238 bp	CCE ES bb.	myš
↑ <i>Nanog</i>	-871 až -585 bp	embryonální bb.	myš
↑ <i>Twist</i>	-116 až -107 bp -103 až -96 bp	A431 bb.	člověk
↑ <i>Zeb1</i>	-310 až -130 bp	SW116, LoVo bb.	člověk
↓ <i>p53</i>	-128 bp	NIH-3T3, MEF bb.	myš
↑ <i>Oct-1</i>	-3.5 až -2.5 kb	Eca-109 bb.	člověk
Apoptóza a proliferace			
↑ <i>Bcl-2</i>	-1022 až -1002 bp	HeLa bb.	člověk
↑ <i>Mcl-1</i>	-94 až -86 bp	U266, v-Src-3T3 bb.	člověk, myš
↑ <i>Bcl-xL</i>	-600 až 0 bp	U266 myelom, NIH-3T3 bb.	člověk, myš
↑ <i>Survivin</i>	-1174 až -1166 bp -1095 až -1087 bp	MDA-MB-453, NIH-3T3 bb.	člověk, myš
↓ <i>Fas</i>	-460 až -240 bp	myelomové bb.	člověk
↑ <i>Hsp70</i>	-122 až -90 bp	VSM, HeLa bb.	člověk
↑ <i>Hsp90α</i>	-1642 až -1485 bp	Jurkat bb.	člověk
↑ <i>Hsp90β</i>	-643 až -623 bp	VSM bb.	člověk
↑ <i>Cyclin-D1</i>	-984 bp, -568 bp -475 bp, -239 bp	293T, 3YI, NIH-3T3, 2fTG bb.	člověk, myš
Potlačení imunity a záněť			
↑ <i>IL-10</i>	-120 až -111 bp	RPMI-8226 B bb.	člověk
↑ <i>IL-23</i>	-1159 až +160 bp	B16 nádory	myš
↑ <i>TGF-β</i>	-3155 až -2515 bp	CD4+ T bb.	myš
↑ <i>COX-2</i>	-134 až -127 bp	U87MG bb.	člověk
Metastazování			
↑ <i>MMP-1</i>	-79 až -42 bp	T24, HT-29 bb.	člověk
↑ <i>MMP-2</i>	-1657 až -1620 bp -625 až -601 bp	C4K1735 bb.	myš
↑ <i>MMP-3</i>	-410 až -110 bp	HBVE bb.	člověk
↑ <i>MMP-9</i>	-942 až -934 bp	MCF7 bb.	člověk
↑ <i>Fascin</i>	-1095 až -1067 bp -975 až -948 bp	4T1, MDA-MB-231 bb.	člověk, myš
↑ <i>Vimentin</i>	-757 až -749 bp	MDA-MB-231, C2C12 bb.	člověk, myš
↑ <i>RhoU</i>	-1067 až -324 bp	MEF bb.	myš
↑ <i>ICAM-1</i>	-76 až -66 bp -175 až -97 bp	HepG2, BV2 bb.	člověk, myš
↑ <i>NGAL</i>	-170 bp	primární makrofágy	člověk
↑ <i>POMC</i>	-399 až -374 bp	AtT20 bb.	myš
↑ <i>SAA1</i>	-226 až +24 bp	HepG2 bb.	člověk
Angiogeneze			
↑ <i>VEGF-A</i>	-848 bp	v-Src-3T3 bb.	myš
↑ <i>bFGF</i>	-997 až -989 bp	HUVEC	člověk

↑	<i>HGF</i>	-149 bp, -110 bp	SP1, RINm5F bb.	myš
Buněčná signalizace				
↑	<i>AKT</i>	proximální -2.2 kb	293 bb.	člověk
↑	<i>PIM-1</i>	-934 až -905 bp	mikroglie	myš
↑	<i>TNF-R2</i>	-1578 bp, -364 bp	SW480 bb.	člověk
↑	<i>S1P-R1</i>	-588 bp	MB49 bb., B16 nádory	myš
↑	<i>MUC-1</i>	-503 až -495 bp	T74D, ZR-75-1 bb.	člověk
B) STAT3 cílové geny potlačující nádory				
Transkripční faktory				
↑	<i>FOXO1</i>	-515 bp	CD4+ T bb.	myš
↑	<i>FOXO3A</i>	+196 bp	CD4+ T bb.	myš
↑	<i>Foxp3</i>	intron 1	2993 bb.	člověk
↓	<i>Neclin</i>	-588 bp	v-Src-3T3	myš
Přežití a tvorba metastáz				
↑	<i>p21^{CIP1/WAF1}</i>	-4183 bp, -2540 bp, -640 bp	MG63, A431, HT-29, WiDr, HepG2 bb.	člověk
↑	<i>PI3K p50α</i>	-276 bp	mléčná žláza	myš
↑	<i>PI3K p55α</i>	-624 bp	mléčná žláza	myš
Imunitní dohled proti nádorům				
↑↓	<i>IL-6</i>	-73 až -54 bp	NIH-3T3, CT26	myš
↑↓	<i>TNF-α</i>	-1452 bp	makrofágy, SCK1	myš
↑↓	<i>IFN-γ</i>	105 až 542 bp	T bb.	člověk, myš
↑↓	<i>RANTES</i>	-120 až -1 bp	PC3, NIH-3T3 bb.	člověk, myš
↑	<i>CRP</i>	-112 až -105 bp	Hep3B bb.	člověk
↑	<i>STAT1</i>	-604 až -596 bp -444 až -435 bp -363 až -356 bp -246 až -239 bp	MDA-MB-468 bb.	člověk
↑	<i>RORγt</i>	1. intron	TH17 bb.	myš
↑	<i>RORα</i>	1. intron	TH17 bb.	myš
↑	<i>BATF</i>	2. intron	TH17 bb.	myš
↑	<i>IRF4</i>	proximální promotor	TH17 bb.	myš
↑	<i>IL-6Rα</i>	1. intron	TH17 bb.	myš
↑	<i>IL-23R</i>	UD	TH17 bb.	myš
↑	<i>IL-17A</i>	-144 bp	TH17 bb.	myš
↑	<i>IL-17F</i>	-309 bp -326 bp	TH17 bb.	myš
Další				
↑	<i>TIMP-1</i>	-49 až -41 bp	HepG2, W138, CD4+ T bb.	člověk, myš
↑	<i>JunB</i>	-196 až -91 bp	HepG2 bb.	člověk
↑	<i>iNOS</i>	-142 až -130 bp -84 až -60 bp	A431 bb.	člověk
↑↓	<i>CDC25A</i>	-222 až +58 bp	HepG2, Saos bb.	člověk

2.7. Regulace STAT3 signální dráhy

Protože působení STAT3 musí být pro správné fungování organismu pouze dočasné, jsou vyvinuty mechanismy, jak jeho aktivitu tlumit a to pomocí inhibičních molekul, tzv. negativních regulátorů, kam patří dvě proteinové rodiny - **SOCS/JAB/SSI** a **PIAS**, anebo dochází k **inaktivaci pomocí fosfatáz** nebo **ubikvitinací a degradací v proteazomu**. **SOCS** negativně regulují JAK/STAT3 signální

dráhu a řadíme sem **SOCS1-7** a **CIS** (Naka *et al.*, 1997) (Hilton, 2000). Konkrétně **SOCS-1** se váže přímo na JAK kinázu a znemožňuje tak fosforylaci STAT3 (Starr *et al.*, 1999). **SOCS-3** inhibuje JAK/STAT3 dráhu tím, že se váže na cytokinový receptor, konkrétně na podjednotku gp130 (Nicholson *et al.*, 2000). Druhou rodinou negativních regulátorů jsou **PIAS**, kam patří PIAS1, PIAS3, PIASy a PIASx (Liu *et al.*, 1998). STAT3 je inhibován pomocí **PIAS3**, který se váže na DNA- vázající doménu a STAT3 tak nemůže zprostředkovat aktivaci genů (Chung *et al.*, 1997). Dalším mechanismem je inaktivace pomocí fosfatáz, které se nacházejí v cytoplazmě a jedná se o **SHP1** a **SHP2**. Fosfatázy defosforylují tyrosiny nacházející se na příslušných cytokinových receptorech nebo na JAK kinázách (David *et al.*, 1995) (You, Yu and Feng, 1999). Fosfatázy najdeme i v jádře, jde o **TC-PTP**, která přímo interaguje a defosforyluje STAT3 (Yamamoto *et al.*, 2002). Poslední zmíněnou možností je **degradace v proteazomu 26S**, čímž je kompletně narušena aktivita STAT3 (Daino *et al.*, 2000).

3. Mechanismy a dopady aberantní aktivace STAT3 v kancerogenezi

Kancerogeneze je proces popisující vznik, formování a abnormální růst tkáně, což vede ke vzniku nádoru, rakoviny a zhoubného bujení. Podnětů pro indukci kancerogeneze je několik a můžeme je rozdělit do čtyř základních skupin – chemické, fyzikální, biologické a genetické (Pitot and Dragan, 1991). To že se v procesu kancerogeneze uplatňuje i STAT3, bylo například ukázáno ve studii z roku 1996, kdy bylo objeveno, že zvýšená exprese Src kinázy v transformovaných buňkách vede ke zvýšené tyrosinové fosforylaci u STAT3 molekuly, což způsobí její konstitutivní aktivaci (Cao *et al.*, 1996). Rakovina je definována šesti charakteristickými znaky nádorových buněk, což jsou nezávislá proliferace, odolnost vůči signálům, které zamezují růst, unikání apoptóze, neomezená možnost replikace, neustále probíhající angiogeneze a schopnost napadat další tkáň a metastázovat. Hanahan a Weinberg podrobně shrnuli a popsali tyto znaky ve svém review (Hanahan and Weinberg, 2000). Tyto vlastnosti jsou ovlivňovány STAT3, který reguluje geny s nimi spojené – např. *Bcl-2*, *Bcl-xL* a *Cyclin-D1* ovlivňují apoptózu a proliferaci, *VEGF* a *HGF* řídí angiogenezi, *IL-10*, *TGF-β* a *COX-2* tlumí imunitu a podporují zánět a *MMP-1,2,3* a *9* se podílí na metastázování (přehled pronádorově působících genů, které reguluje STAT3 je shrnut v **Tabulce 2**).

3.1. Mechanismy vedoucí ke konstitutivní aktivaci STAT3

Existuje mnoho způsobů, jak lze docílit konstitutivní aktivace STAT3 a jednotlivé aktivátory lze rozdělit do dvou skupin – aktivátory **vnější** a **vnitřní**. První skupinou jsou tedy **vnější aktivátory** a jedním z hlavních je **rodina cytokinů IL-6**, které se váží na svůj cytokinový receptor, dojde k aktivaci JAK kináz, které fosforylují gp130 podjednotku, která poté aktivuje fosforylaci STAT3 (Taga *et al.*, 1989). **IL-6** je produkován buňkami imunitního systému, kdy např. skrze T-lymfocyty kontroluje růst nádorů u rakoviny tlustého střeva (Becker *et al.*, 2004). Zvýšená produkce **IL-6** byla zaznamenána i např. u

rakoviny tlustého střeva související s ulcerózní kolitidou, kde je **IL-6** produkován makrofágy typu M2 (Schiechl *et al.*, 2011). **IL-6** je takto produkován i stromálními buňkami jako je tomu např. u myelomu kostní dřeně (Shain *et al.*, 2009). **IL-11**, další z rodiny cytokinů IL-6, se takto podílí např. na rozvoji rakoviny žaludku (Ernst *et al.*, 2008). **IL-6** buďto autokrinní nebo parakrinní cestou stimuluje JAK/STAT3 signální dráhu v nádorových buňkách (Catlett-Falcone *et al.*, 1999). Dráha JAK/STAT3 je během kancerogeneze aktivována i skrze **GPCR**, konkrétním příkladem je sfingosin-1-fosfátový receptor 1 (**S1PR1**), což je receptor pro sfingolipid S1P, který také zvyšuje aktivitu STAT3 a vede ke konstitutivní aktivaci STAT3 v nádorových buňkách i v nádorovém mikroprostředí (Lee *et al.*, 2010). Poslední zmíněnou možností, jak aktivovat JAK/STAT3 dráhu je pomocí **Toll-like receptorů (TLR)**. V epiteliálních buňkách střeva dochází k vyšší expresi **TLR-4** a postupně dochází k rozvoji zánětu a následně i rakoviny, příkladem může být rakovina tlustého střeva (Terzić *et al.*, 2010) (Eyking *et al.*, 2011). Kromě JAK kináz se na takovéto aktivaci podílí i protein tyrosin kinázy onkogenního charakteru, **Src kinázy** (Cao *et al.*, 1996), které již spadají do skupiny **vnitřních aktivátorů**. **c-Src** kináza se uplatňuje např. u rakoviny tlustého střeva, kde je zvýšená exprese **c-Src** spojována s různými mitogeny jako EGFR nebo c-Met (Mao *et al.*, 1997) (Summy and Gallick, 2003). Na konstitutivní aktivaci STAT3 se podílejí i různé mutace. U JAK kináz dochází díky mutacím k zesílení jejich funkce, kdy např. mutant **JAK2V617F** zvýšenou aktivací STAT3 přispívá k tvorbě chronických myeloproliferativních novotvarů (Oku *et al.*, 2010). Dále **mutace v kinázové doméně EGFR** v buňkách rakoviny plic je schopna aktivovat dráhu gp130/JAK/STAT3, protože podporuje produkci IL-6 (Gao *et al.*, 2007). K mutacím může docházet i v samotné molekule STAT3. Příkladem jsou mutace **Y640F** a **D661V** v SH2 doméně, které způsobují zvýšenou fosforylaci na Tyr705 u granulární lymfocytární leukémie (Fasan *et al.*, 2012). Mezi mechanismy aberantní aktivace můžeme řadit i **potlačení funkce inhibitorů STAT3 signální dráhy**. Snížená hodnota **SOCS-1** a **SOCS-3** byla pozorována např. u buněčných linií Barrettova adenokarcinomu a nízká hodnota **SHP1** byla pozorována u leukémie. Ve všech případech došlo k methylaci promotoru a tudíž k umlčení jejich genů (Oka *et al.*, 2002) (Tischhoff *et al.*, 2007). Nízká hladina **PIAS3** byla detekována u buněk glioblastomu, což je pravděpodobně zapříčiněno ubikvitinací a degradací **PIAS3** v proteazomu (Brantley *et al.*, 2008). Posledním zmíněným příkladem je aberantní aktivace STAT3 pomocí **miRNA**. **miR551b-3p** přímo interaguje se STAT3 promotorem a zvyšuje jeho hladinu, což je klíčové u rakoviny vaječníků (Chaluvally-Raghavan *et al.*, 2016). **miR-221** a **miR-222** udržují zpětnovazebnou smyčku, která napomáhá udržovat konstitutivní aktivaci STAT3 a NF-κB u nádorů tlustého střeva a konečníku (Liu *et al.*, 2014). A **miR-18a** se váže na určité místo v genu pro PIAS3, snižuje jeho množství a je tedy umožněna konstitutivní aktivace STAT3, jako je tomu v případě rakoviny žaludku (Wu *et al.*, 2013).

3.2. Chronický zánět vede ke kancerogenezi

Spojitost mezi zánětem a rakovinou zmínil již Rudolf Virchow v roce 1863, když objevil větší množství leukocytů ve vzorku z nádoru, a postupem času se stalo zjevným, že zánět hraje při rozvoji rakoviny velmi důležitou roli a je tak považován za další z charakteristických znaků rakoviny (Balkwill and Mantovani, 2001). Existují dvě cesty propojující zánět s rakovinou a je to zaprvé **vnější cesta**, která je řízena infekcí a zánětem, který vzniká poraněním tkáně a migrací leukocytů za gradientem cytokinů, chemokinů a růstových faktorů produkovaných buňkami v tomto místě a samy leukocyty je také produkují. Druhou cestou je **vnitřní cesta** a ta je definována genetickými změnami, které jsou způsobené různými onkogeny, které také indukují produkci cytokinů a transkripčních faktorů v transformovaných buňkách, a tím vzniká zánětlivý stav (viz. **Obr.2**) (Mantovani *et al.*, 2008). Zánět akutní postupně přejde v zánět chronický, pokud dojde k porušení funkce některé ze zúčastněných složek, který způsobuje různé patologie a chronická onemocnění, mezi které mimo jiné patří i rakovina (Gulumian, 1999). Podnětů pro vznik patologie a následného nádoru je mnoho a některé jsou uvedeny v **Tabulce 3**.

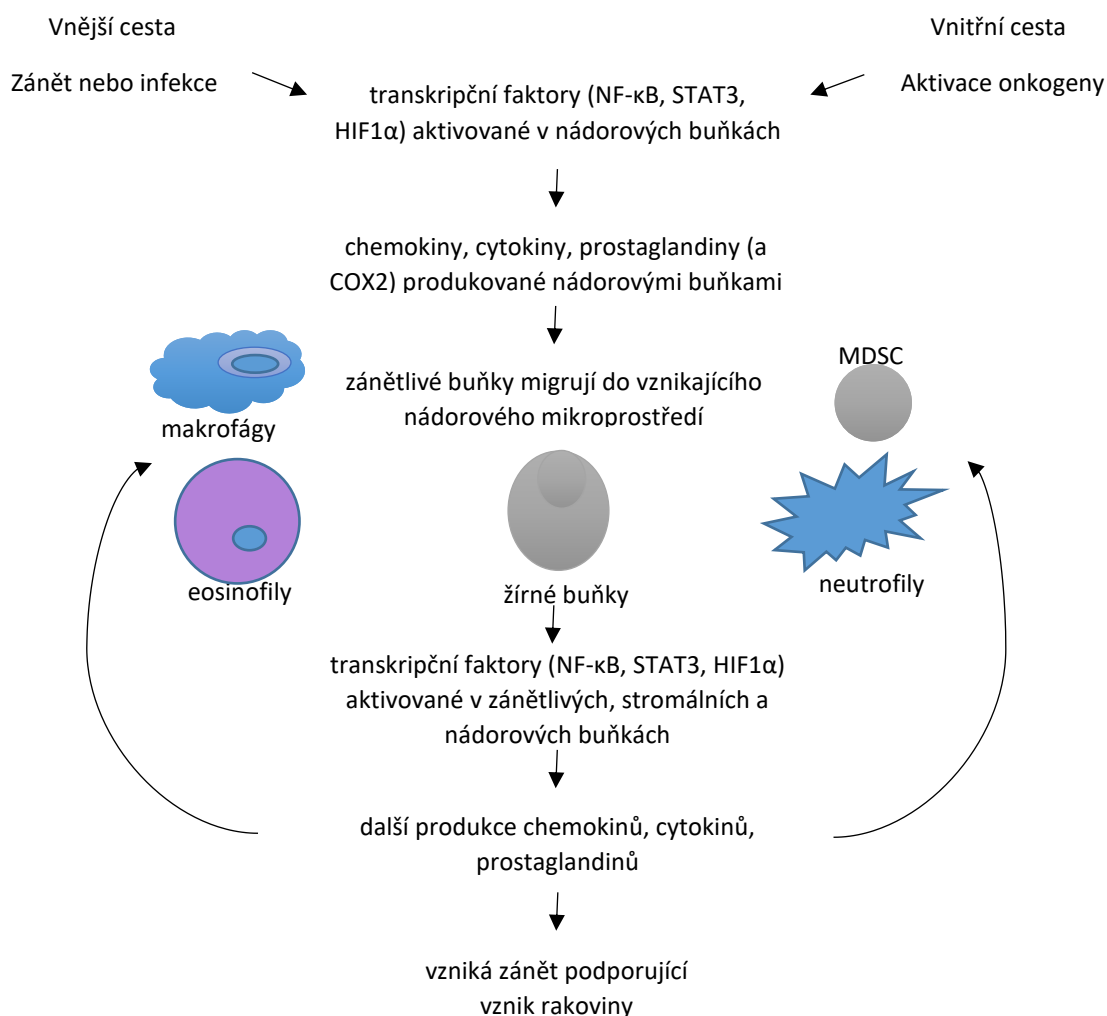
Tabulka 3 – Příklady podnětů a patologií vedoucích ke vzniku nádoru (Coussens and Werb, 2002)

Patologický stav	Podnět vedoucí k patologii	Přidružený nádor
bronchitida	azbest, kouření	plicní karcinom
zánětlivé onemocnění střev, Crohnova choroba, chronická ulcerativní kolitida		karcinom tlustého střeva a konečníku
chronická pankreatitida, dědičná pankreatitida	alkoholismus, mutace v genu pro trypsinogen na chromozomu 7	karcinom slinivky
kožní záněty	UV záření	melanom
chronická cholecystida	bakterie, žlučnickové kameny	rakovina žlučníku
gastritida, vředy	<i>Helicobacter pylori</i>	žaludeční adenokarcinom
hepatitida	HBV, HCV	hepatocelulární karcinom
mononukleóza	EBV	B-buněčný non-Hodgkinův lymfom, Burkittův lymfom
AIDS	HIV, lidský herpesvirus typu 8	non-Hodgkinův lymfom, spinocelulární karcinom, Kaposiho sarkom
osteomyelitida	bakteriální infekce	kožní karcinom
hluboký pánevní zánět, chronická cervicitida	kapavka, chlamydie, lidský papillomavirus	karcinom vaječníků, cervikální/anální karcinom
chronická cystitida	schistosomóza	karcinom močového měchýře, jater nebo konečníku, folikulární karcinom sleziny

Obě tyto cesty nakonec vedou ke stimulaci produkce transkripčních faktorů nádorovými i imunitními buňkami, hlavně **STAT3** a **NF-κB**, které jsou nejvíce probíraným spojníkem zánětu a rakoviny (viz. **Obr.2**) (Pikarsky *et al.*, 2004) (Greten *et al.*, 2004) (Bollrath *et al.*, 2009) (Grivennikov *et al.*, 2009).

NF-κB je transkripční faktor, jehož hlavním aktivátorem je TNF-α, a reguluje geny, které jsou zapojeny v zánětlivé odpovědi a v produkci cytokinů, růstových faktorů nebo adhezivních molekul, dále také reguluje apoptické geny (např. *Bcl2*), inhibuje apoptózu a podporuje tak přežití buněk (Antwerp *et al.*, 1996) (Pikarsky *et al.*, 2004). **NF-κB** reaguje na hypoxii, která je spojena se zánětlivým prostředím, a stimuluje produkci transkripčního faktoru **HIF-1α** (Mizukami *et al.*, 2005) (Rius *et al.*, 2008). **STAT3** ovlivňuje produkci cytokinů, chemokinů a růstových faktorů, které podporují migraci leukocytů a formuje jak prozánětlivé, tak protizánětlivé imunitní odpovědi (Judd *et al.*, 2006) (Bollrath *et al.*, 2009). To znamená, že indukce rakoviny i její postupný vývoj je neustále regulován jednotlivými nádorovými buňkami a zánětlivými složkami, které produkují **prozánětlivé** (např. IL-6, IL-1β) nebo **protizánětlivé** (např. IL-10) **cytokiny**, dále **ROS**, **serin**, **cystein**, **metaloproteinázy** (např. MMP-9), **cyklooxygenáza** (COX2) nebo různé **cytokiny zprostředkující cytotoxicitu** jako je TNF a IFN, aby byl v nádorovém mikroprostředí stále udržován zánětlivý stav (viz. **Obr.2**) (Jaeschke and Smith, 1997) (Coussens *et al.*, 1999) (Coussens *et al.*, 2000) (Rius *et al.*, 2008) (Bollrath *et al.*, 2009).

Obr.2: Vnější a vnitřní cesta spojující ve výsledku zánět a rakovinu - vlastní zpracování podle (Mantovani *et al.*, 2008)

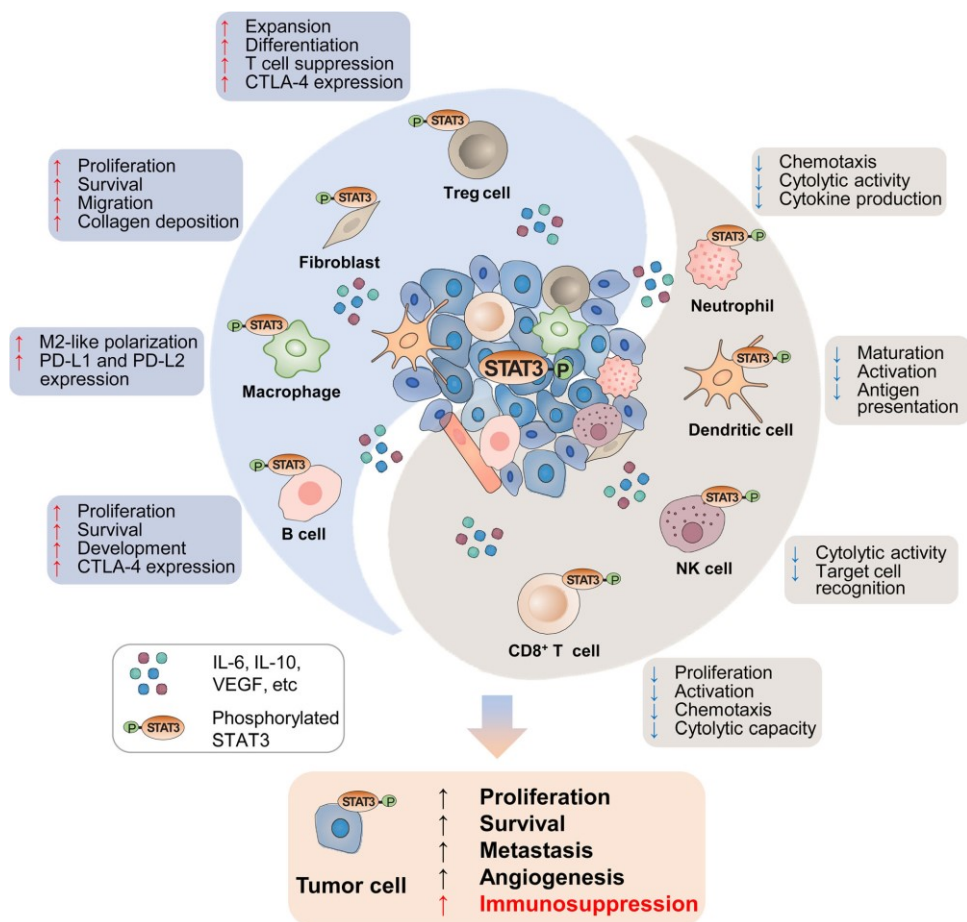


3.3. Nádorové mikroprostředí

Nádorové mikroprostředí obsahuje nádorové i nenádorové buňky, které spolu interagují a komunikují pomocí množství cytokinů, chemokinů, růstových faktorů nebo enzymů modulujících ECM, a vytvoří tak prostředí, ve kterém nádorové buňky mohou existovat (Hanahan and Coussens, 2012). V oblasti nádorového mikroprostředí je snížené množství kyslíku, živin (jako je glukóza) a nízké pH (Tannock and Rotin, 1989) (Cuvier, Jang and Hill, 1997) (Iyer *et al.*, 1998). Na snížené množství kyslíku reaguje HIF-1, což je transkripční faktor, který aktivuje geny zodpovědné za to, že nádorová buňka přejde z aerobního na anaerobní metabolismus a také se podílí na angiogenezi (Goonewardene, Sowter and Harris, 2002). Konstitutivně aktivovaný STAT3 v nádorových buňkách snižuje expresi cytokinů, které stimulují imunitní odpovědi, jako jsou IFN nebo prozánětlivé cytokiny (IL-12 a TNF- α) a chemokiny (CCL5, CXCL10), zatímco zvyšuje expresi cytokinů, jako jsou IL-6, IL-10, TGF- β a VEGF, což má negativní dopad na rozvoj imunitních reakcí (Wang *et al.*, 2004). Efekt STAT3 a IL-6 na jednotlivé buňky v nádorovém mikroprostředí je znázorněn na **Obr.3**. Nádorové buňky obklopuje stroma neboli podpůrná tkáň, která se skládá z fibroblastů, cévních a lymfatických endoteliálních buněk a z buněk imunitního systému (Liotta and Kohn, 2001). V nádorovém mikroprostředí najdeme fibroblasty označované jako **CAFs**. **CAFs** produkují různé cytokiny a růstové faktory (např. TGF- β nebo HGF) a podílí se na proliferaci a přežití nádorových buněk (Kuperwasser *et al.*, 2004). **CAFs** také produkují protein FSP1, který napomáhá růstu nádorových buněk (Spaeth *et al.*, 2009), nebo enzymy podílející se na remodelaci ECM (Erez *et al.*, 2010). **CAFs** jsou spojovány s udržováním zánětlivého prostředí a produkují chemokin CXCL12 (také znám jako SDF-1), pomocí kterého řídí migraci prekursorů endoteliálních buněk a stimulují angiogenezi, což také napomáhá růstu nádoru (Orimo *et al.*, 2005) (Erez *et al.*, 2010). Růstový faktor VEGF zprostředkovává angiogenezi, protože stimuluje růst cév v nádorovém mikroprostředí z okolních kapilár (Warren *et al.*, 1995) (Carmeliet, 2005). VEGF je produkován makrofágy označované v nádorovém mikroprostředí jako **TAMs**, které jsou označovány za největší přispěvatele k nádorové angiogenezi (Lewis *et al.*, 2000). Kromě VEGF produkují ještě thymidin fosforylázu, což je faktor podporující angiogenezi a migraci endoteliálních buněk (Hotchkiss *et al.*, 2003) nebo MMP-9, což je proangiogenní proteáza, která zvyšuje uvolňování VEGF např. u rakoviny slinivky (Bergers *et al.*, 2000). Neutrofily v nádorovém mikroprostředí se označují jako **TANs**, které na jednu stranu také podporují angiogenezi, protože produkují MMP-9 (Nozawa, Chiu and Hanahan, 2006), podporují růst nádoru (Pekarek *et al.*, 1995), zvyšují degradaci ECM (De Larco, Wuertz and Furcht, 2004) a potlačují imunitu (Youn *et al.*, 2008), ale na druhou stranu mají i protinádorové funkce (Colombo *et al.*, 1992) (Hicks *et al.*, 2006). V nádorovém mikroprostředí se nachází i T- a B-lymfocyty. **CD4+ Th typu 1 i 2** produkují cytokiny, které aktivují eozinofily a makrofágy a podílejí se tak na protinádorové imunitě (Hung *et al.*, 1998). Aktivita cytotoxických **CD8+ T-lymfocytů** je podporována

Th1 buňkami a podílí se na zabíjení nádorových buněk (Wang *et al.*, 2004). **Th17** buňky produkující IL-17 mohou napomáhat růstu nádoru tím, že udržují zánětlivý stav a podporují angiogenezi v nádorovém mikroprostředí např. u pacientů s hepatocelulárním karcinomem (Numasaki *et al.*, 2003) (Zhang *et al.*, 2009). Naopak u pacientek s rakovinou vaječníků mají **Th17** protinádorové účinky (Kryczek *et al.*, 2009). Důležitými buňkami jsou **regulační T-lymfocyty**, protože tlumí imunitní reakce proti nádorovým buňkám, např. u rakoviny plic, vaječníků, prsu nebo slinivky (Woo *et al.*, 2001) (Liyanage *et al.*, 2002). **B-lymfocyty** stimulují **CD4+** a **CD8+** paměťové T-lymfocyty, které napomáhají snižovat invazivitu nádorových buněk a metastázování, ale pokud je množství B-lymfocytů sníženo, naopak to napomáhá růstu nádoru (DiLillo, Yanaba and Tedder, 2010). Dalším typem buněk jsou **NK buňky**, které produkcí chemokinů CCL5 a CXCL1 přitahují do nádorového prostředí **DC**, které vykonávají protinádorové funkce (Böttcher *et al.*, 2018). Nádorové buňky u NSCLC, což je rakovina plic, jsou schopné v **NK buňkách** pomocí TGB- β vyvolat takový fenotypový projev, kdy nejsou schopny ničit nádorové buňky (Platonova *et al.*, 2011). **MDSCs** jsou imunosupresivní buňky, které metabolizují L- arginin, důležitý pro proliferaci zejména **CD8+ T-lymfocytů**, pomocí dvou enzymů – NOS a Arg-1, čímž tuto proliferaci blokují (Ochoa *et al.*, 2001) (Mazzoni *et al.*, 2002). **MDSCs** se také podílejí na vývoji **regulačních T-lymfocytů** (Huang *et al.*, 2006).

Obr. 3: Role STAT3 v jednotlivých buňkách nádorového mikroprostředí – převzato z (Zou *et al.*, 2020)



3.4. STAT3 jako onkogen vs. STAT3 jako onkosupresor

Výše (3.1.) jsou uvedeny mechanismy aberantní aktivace STAT3 signální dráhy, která ve výsledku povede k indukci kancerogeneze. Nicméně může vzniknout v buňce situace, kdy STAT3 bude fungovat spíše jako onkosupresor, to znamená, že bude potlačovat nádorovou transformaci. STAT3 tedy může ve stejných buňkách fungovat buď jako molekula stimulující anebo inhibující vznik nádorů, záleží na podmínkách, jako je např. různé genetické pozadí. První zmínka o tom, že STAT3 vykazuje za určitých podmínek i nádor inhibující funkce, pochází ze studie od Iglesias *et al.*, kdy autoři v případě glioblastomu využili astrocyty s knockoutovaným **PTEN** a zjistili, že za těchto podmínek STAT3 potlačuje proliferaci a invazivitu astrocytů. Bylo také zjištěno, že STAT3 u stejných buněčných linií vykazuje naopak onkogenní účinek v případě, že došlo k transfekci **EGFRvIII**, se kterým STAT3 tvoří v jádře komplex, čímž podpoří transformaci astrocytů (Iglesias *et al.*, 2008). Dalším příkladem jsou **p19^{ARF}** knockoutované myši u HCC. Autoři použili Ras-transformované hepatocyty z těchto myší a zjistili, že STAT3 potlačuje vznik nádoru. Pokud ale vezmeme **p19^{ARF}** pozitivní Ras-transformované hepatocyty, má STAT3 tumor-stimulující účinky, což tedy znamená, že **p19^{ARF}** reguluje pro- a protionkogenní účinky STAT3 (Schneller *et al.*, 2011). Kromě genetických vlivů, mohou onkosupresivní funkce u STAT3 vyvolat i různé vnější faktory, např. různé chemické látky nebo léky. Příkladem jsou **tetrachlormethan (CCl₄)** a **diethylnitrosamin (DEN)** a jejich působení během karcinogeneze jater. **CCl₄** způsobí, že u hepatocytů, které vykazují normální hladinu STAT3, dochází k tlumení chronického zánětu v játrech a je rovněž potlačována kancerogeneze, ale pokud máme myši s knockoutovaným STAT3, je účinek opačný. U **DEN** je výsledek opačný a delece STAT3 brání rozvoji nádorů a u hepatocytů, kde je exprimován STAT3, **DEN** způsobuje vyšší tvorbu nádorů (Wang *et al.*, 2011).

4. STAT3 aktivace v imunitní odpovědi na virovou infekci a její negativní důsledky

Molekula STAT3 se uplatňuje v řadě virových mechanismů a je pomocí virů regulována a to buď pozitivně, nebo negativně, záleží na typu viru. Regulovat STAT3 mohou jak **DNA viry** (např. HBV, EBV, KSHV, HCMV), tak **RNA viry** (např. HCV, IAV, HIV, SARS-Cov, virus spalniček a příušnic). Mezi viry, které stimulují STAT3 signální dráhu, patří např. **HBV** (Waris and Siddiqui, 2002), **HCV** (Yoshida *et al.*, 2002), **HCMV** (Lepiller *et al.*, 2013), **EBV** (Kung, Meckes and Raab-Traub, 2011), **KSHV** (Punjabi *et al.*, 2007) nebo **HIV** (Percario *et al.*, 2003) a mezi viry, které naopak inhibují funkce STAT3 patří např. **IAV** (Hui *et al.*, 2016), **virus příušnic** (Ulane *et al.*, 2003) a **spalniček** (Palosaari *et al.*, 2003) nebo **SARS-Cov** (Mizutani *et al.*, 2004).

4.1. Provirové a antivirové molekulární mechanismy STAT3

STAT3 ve spolupráci s viry může působit dvěma způsoby, buď STAT3 různými mechanismy stimuluje virové funkce a podporuje tak vznik patologie anebo naopak inhibuje virové funkce a vznik patologie, jak je ukázáno v **Tabulce 4**.

Tabulka 4: Molekulární mechanismy virů ve spolupráci se STAT3 - předloha podle (Chang *et al.*, 2018)

Druh viru	Výzkumný model	Molekulární mechanismus	Publikace
A) Provirová aktivita STAT3 nebo pomoc viru při zprostředkování patogeneze			
HBV	HepG2 buňky	HBx aktivuje signální dráhu STAT3 pomocí oxidativního stresu	(Waris, Huh and Siddiqui, 2001)
	buněčné linie lidského hepatomu (Hep3B, PLC/PRF/5) a nenádorové hepatocyty (MIHA, L02)	HBx pomocí dráhy IL-6/STAT3 zvyšuje hladinu miR-21	(Li <i>et al.</i> , 2014)
	HBV transgenní myši	HBsAg narušuje aktivaci T-bb. polarizací monocytů na mMDSCs v dráze ERK/IL-6/STAT3	(Fang <i>et al.</i> , 2015)
	klinické vzorky a buněčné linie HCC (HepG2, HepG2.2.15, HuH7)	HBV snižuje hladinu miR-340-5p, aby došlo k aktivaci STAT3 a k migraci jaterních nádorových buněk	(Xiong <i>et al.</i> , 2017)
	HepG2.2.15	vazba STAT3 a HNF-3 stimuluje HBV enhancer I v reakci na IL-6 a EGF	(Waris and Siddiqui, 2002)
	HBV transgenní myši a HepG2.2.15	radioterapie a IL-6 vyvolají reaktivaci HBV skrze STAT3 signalizaci	(Chou <i>et al.</i> , 2009)
	buněčná linie lidských HCC – Bel-7402 a SMMC-7721	pomocí Sta3/Nanog kaskády HBx-Δ C1 zlepšuje vlastnosti jaterních nádorových kmenových buněk	(Ching <i>et al.</i> , 2017)
	pacienti s HBVGN a HK-2 bb.	pomocí aktivace JAK2/STAT3 zvyšuje HBx poměr Bax/Bcl-2 a způsobuje apoptózu epiteliálních bb. renálních tubulů	(He <i>et al.</i> , 2013)
HCV	Huh-7 bb.	NS5A vyvolává oxidativní stres a aktivuje tak STAT3 a NF-κB	(Gong <i>et al.</i> , 2001)
	purifikované monocyty od zdravého dárce	extracelulární HCV core protein aktivuje STAT3 pomocí PI3K/Akt a IL-6 dráhy, čímž narušuje T-buněčnou odpověď	(Tacke <i>et al.</i> , 2011)
	Huh-7, Huh-7.5, NNeoC5B, NNeo3-5B bb.	dochází k aktivaci STAT3, díky které je pozitivně regulována dynamika mikrotubulů, aby se zvýšila replikace HCV	(Mccartney <i>et al.</i> , 2013)
	Huh7	STAT3 pomocí PI4P snižuje hladinu Inc-IGF2-AS a Inc-7SK, aby došlo k replikaci HCV	(Xiong, Jia, <i>et al.</i> , 2015)
	Huh7	HCV snižuje hladinu STAT3 s pomocí miR-122 a snižuje expresi IFN-α a IFN-β	(Xiong, Zhang, <i>et al.</i> , 2015)
	purifikované monocyty od zdravého dárce	pomocí dráhy TLR2/PI3K/AKT/STAT3 stimuluje jádro HCV MDSC podobné monocytům, aby potlačily aktivaci CD4+ T-bb.	(Zhai <i>et al.</i> , 2017)
	HepG2 a NIH 3T3 bb.	aktivace STAT3 vede k proliferaci a zvýšení hladiny Bcl-xL a cyklinu-D1	(Yoshida <i>et al.</i> , 2002)
	HepG2 a Huh7	pomocí Jak1 NS5A aktivuje STAT3 a zvyšuje hladinu Bcl-xL a p21	(Sarcar <i>et al.</i> , 2004)
	HepG2	HCV core protein stimuluje STAT3 fosforylaci a zvyšuje hladinu NANOG	(Zhou <i>et al.</i> , 2014)
	Huh-7, Huh7.5.1, PHHs	NS4B aktivuje STAT3, který stimuluje expresi	(Kong <i>et al.</i> ,

		pronádorových cílových genů	2016)
HCMV	MRC-5, ARPE19 a U373 bb.	HCMV využívá uSTAT3, aby se podpořila replikace DNA u HCMV, IE1 je regulátor intracelulární lokalizace STAT3 a signalizace IL-6	(Reitsma <i>et al.</i> , 2013)
	HepG2 a PHH bb.	aktivace IL-6/JAK/STAT3 podporuje formování nádoru	(Lepiller <i>et al.</i> , 2013)
EBV	buněčná linie NPC (CNE1)	pomocí JAK3 a ERK LMP1 stimuluje STAT3	(Liu <i>et al.</i> , 2008)
	buněčná linie karcinomu děložního čípku – C33A bb.	LMP1-CTAR1 aktivuje STAT3, což u Bcl-3 zvyšuje regulaci EGFR	(Kung and Raab-Traub, 2008)
	buněčná linie karcinomu děložního čípku – C33A bb., Rat-1 bb. a 293T bb.	pomocí PKCδ LMP1 aktivuje EGFR, STAT3 a ERK	(Kung, Meckes and Raab-Traub, 2011)
	HeLa a HEK 293T	EBNA2 zvyšuje vazebnou schopnost STAT3-DNA	(Muromoto <i>et al.</i> , 2009)
	B-buněčná linie	pomocí PI3K/BTK cesty LMP2 aktivuje STAT3	(Incrocci <i>et al.</i> , 2017)
	NPC buněčná linie, HONE-1 a CNE-2	aktivace STAT3 přímo přispívá k invazivitě NPC bb.	(Lui <i>et al.</i> , 2009)
	lidská buněčná linie NPC – CNE1	LMP1 aktivuje STAT3 a přispívá k invazi NPC bb.	(Wang <i>et al.</i> , 2010)
	CNE1	LMP1 aktivuje EGFR a STAT3, což podporuje tvorbu cyklinu-D1	(Xu <i>et al.</i> , 2013)
	vzorky pacientů, NPC buněčná linie (HNE-1, 5-8F, HONE-1, C666-1)	LMP1 aktivuje STAT3, čímž potlačuje expresi miR-204	(Ma <i>et al.</i> , 2014)
	pacienti a buněčná linie HH514-16 infikovaná EBV	STAT3 zvyšuje hladinu KRAB-ZFP a omezuje lytickou aktivaci ve prospěch perzistence nádorových bb.	(Hill <i>et al.</i> , 2013)
	EBV lymfoblastoidní buněčná linie (EBV-LCLs)	STAT3 reguluje lytickou citlivost prostřednictvím buněčného PCBP2	(Koganti <i>et al.</i> , 2015)
KSHV	TIME bb., hDMVEC bb., BCBL-1 a BJAB bb.	aktivace STAT3 pomocí gp130 a JAK2	(Punjabi <i>et al.</i> , 2007)
RRSV	A549, HEP-2 bb.	aktivace STAT3 prostřednictvím IL-6	(Kong <i>et al.</i> , 2003)
HIV	nezralé DCs	Nef aktivuje STAT3	(Percario <i>et al.</i> , 2003)
	primární lidské monocyty/makrofágy	Nef aktivuje STAT3 tím, že dojde k uvolnění rozpustných faktorů	(Liu <i>et al.</i> , 2013)
	nezralé MDDCs	gp120 aktivuje IL/STAT3 dráhu	(Del Corno <i>et al.</i> , 2014)
B) Antivirová aktivita STAT3, STAT3 inhibuje virově zprostředkovanou patogenezí			
HSV	myší model	pSTAT3 aktivuje geny jako <i>Bcl-2</i> , <i>Bcl-xL</i> , <i>IAP2</i> , <i>Pim-1</i> , neurodegenerativní <i>GAP-43</i> , vývoj neuronů- <i>GFPAP</i> , aby byl udržen HSV v latentním stavu	(Du, Zhou and Roizman, 2013)
	C57BL/6 myši	dráha IL-6/STAT3 předchází ztrátě neuronových prekursorů, které jsou stimulované pomocí HSV-1	(Chucair-Elliott <i>et al.</i> , 2014)
	STAT3-knockoutované myši a Vero bb.	STAT3-knockoutované myši jsou citlivější k HSV-1	(Hsia <i>et al.</i> , 2017)
IAV	HeLa	H5N1 NS1 snižuje hladinu STAT3, který je indukovaný IFN	(Jia <i>et al.</i> , 2010)
	Huh7 a A549	STAT3 stimuluje ISGs, aby došlo k inhibici replikace IAV	(Mahony <i>et al.</i> , 2017)
	lidské alveolární bb. typu I	H5N1 a H1N1 inhibují aktivaci STAT3	(Hui <i>et al.</i> , 2016)
virus příušnic	lidské 2FTGH, 293T, NIH 3T3, 3T3/v-Src, U3A a U6A buněčná	V protein zajišťuje degradaci STAT3, aby nedošlo k jeho odpovědi na IL-6 nebo v-Src	(Ulane <i>et al.</i> , 2003)

	linie		
virus spalniček	lidské 2FTGH, 293T a 293 Tet-On buněčná linie, myši NIH 3T3 bb.	V protein způsobuje defekt v jaderné akumulaci STAT3, které bylo indukováno IFN, aby nedošlo k reakci na IL-6 a v-Src	(Palosaari <i>et al.</i> , 2003)
hMPV	A549 a opičí bb. z ledvin	zeslabuje signální kaskádu JAK/STAT3 zprostředkovanou IL-6	(Mitzel <i>et al.</i> , 2014)

4.2. STAT3 v imunitní odpovědi a důsledek jeho patologické regulace u vybraných virových infekcí

V první linii obrany proti virové infekci stojí IFN typu I, které aktivují STAT1 a STAT3. V souvislosti se STAT3 jde hlavně o IFN- α , který autokrinní nebo parakrinní cestou aktivuje STAT3 a snaží se v buňkách navodit antivirový stav. Ukázalo se, že je důležitým regulátorem imunitní odpovědi u DNA i RNA virových infekcí (Mahony *et al.*, 2017). Uplatňují se také proteiny reakce akutní fáze, jako je CRP, který je aktivován pomocí STAT3 v odpovědi na IL-6 (Zhang *et al.*, 1996). Dále se STAT3 uplatňuje během adaptivní imunity, konkrétně při regulaci T-lymfocytů, protože mimo jiné reguluje diferenciaci a aktivaci CD8+ T-lymfocytů, který je součástí účinné imunitní odpovědi např. proti **HSV-1** (Yu *et al.*, 2013). Nicméně tyto funkce STAT3 v adaptivní imunitě mohou být virem narušeny, což přináší virům značné výhody. **HEV** produkuje virový protein alfa-1-antitrypsin, který moduluje prozánětlivou odpověď, inhibuje STAT3, čímž narušuje expresi genů reakce akutní fáze a tím prodlužuje přežití infikovaných buněk a **HEV** se může replikovat (Chandra *et al.*, 2008). U **KSHV** je STAT3 aktivován a je to spojeno se zvýšenou expresí CCL5, což je chemoatraktant pro monocyty, eozinofily, NK a DC buňky, které přispívají ke vzniku chronického zánětu způsobujícího patologie jako např. Kaposiho sarkom (King, 2013). Na obraně proti infekci způsobené **HCV** se podílejí hlavně paměťové CD4+ a CD8+ T-lymfocyty a u některých jedinců infekce po čase spontánně odezní, ale u většiny se rozvine chronická infekce, která souvisí s MDSCs, které potlačují funkce T-lymfocytů (Shoukry *et al.*, 2003) (Tacke *et al.*, 2012) a které navíc přispívají k rychlejšímu postupu a metastazování u pacientů s HCC (Kalathil *et al.*, 2013). K rozvoji HCC také přispívá HCV core protein, protože interaguje a fosforyluje STAT3, způsobuje jeho konstitutivní aktivaci a je tedy přímo zodpovědný za nádorovou transformaci (Yoshida *et al.*, 2002). K rozvoji HCC může vést i infekce **HBV** způsobující chronickou hepatitidu, ke které došlo v důsledku interakce mezi STAT3 a HNF-3 (Waris and Siddiqui, 2002). **HCMV** je typ herpesviru, jehož infekce se u zdravých jedinců projevuje jako asymptomatická, ale pokud jsou jedinci, u kterých chybí řádná a účinná imunitní odpověď, jako jsou např. jedinci s AIDS, může vyvolat závažná onemocnění, včetně rakoviny prsu, prostaty, kůže, tlustého střeva nebo jater, kde **HCMV** stimuluje zvýšenou proliferaci skrze IL-6/JAK/STAT3 (Lepiller *et al.*, 2013). S infekcí virem **HIV** a onemocněním AIDS je také spjato zvýšené riziko vzniku nádorů, protože u pokročilejší infekce již došlo k rozsáhlé imunosupresi z důvodu vyčerpání CD4+ T-lymfocytů (Fauci, 1988).

4.3. SARS-Cov-2, COVID-19 a STAT3

SARS-Cov-2 je RNA koronavirus způsobující onemocnění COVID-19, které stojí od prosince 2019 za celosvětovou pandemií. Jak už jsem zmínila výše, v první linii obrany stojí IFN typu I, které aktivují STAT1 i STAT3. Během SARS-Cov-2 dochází k silné produkci IFN- α a aktivaci STAT3, který inhibuje STAT1 tím, že s ním tvoří heterodimery a tlumí antivirovou imunitní odpověď (Ho and Ivashkiv, 2006) (Matsuyama *et al.*, 2020). K inhibici STAT1 přispívají i proteiny SARS-Cov-2, konkrétně NSP1, který snižuje hladinu pSTAT1, podobně jako je tomu u SARS-Cov-1 (Wathelet *et al.*, 2007) nebo ORF6, který je považován za největšího antagonistu IFNs, protože inhibuje jejich produkci i signalizaci (Yuen *et al.*, 2020). Co se týče specifické imunity, jsou v odpovědi na IL-12 a IFN- γ aktivovány CD4⁺ Th1, které podporují cytotoxické funkce CD8⁺ T-lymfocytů (Mosmann *et al.*, 1986). Th2 lymfocyty napomáhají B lymfocytům produkovat protilátky, které se váží na RBD v S proteinu a znemožňují SARS-Cov-2 navázat se na povrch buněk (Ju *et al.*, 2020). Dráha IL-6/STAT3 je schopna inhibovat polarizaci Th1 buněk, kdy buď u CD4⁺ T-lymfocytů indukuje produkci IL-4 a odpověď je tak přesměrována k Th2 buňkách anebo ovlivňuje sekreci IFN- γ , který je pro tuto polarizaci nutný, a obdobný účinek pozorujeme i u CD8⁺ T-lymfocytů. Těmito procesy je viru usnadněno perzistovat a replikovat se (Velazquez-Salinas *et al.*, 2019). Během onemocnění COVID-19 tedy dochází ke snížení počtu CD4⁺ a CD8⁺ T buněk, což je pravděpodobně zapříčiněno i zvýšenou koncentrací TNF- α , IL-6 a IL-10 během infekce SARS-Cov-2 (Diao *et al.*, 2020). Ke zvýšené produkci těchto cytokinů dochází v důsledku zvýšené aktivace makrofágů v plicích COVID-19 pacientů (Beck-Schimmer *et al.*, 2005) (Johnston *et al.*, 2012) a navíc u pacientů s velmi těžkým průběhem byla hodnota IL-6 a IL-10 mnohonásobně vyšší než u pacientů s mírnějšími průběhy (Han *et al.*, 2020). Během infekce SARS-Cov-2 může docházet i k trombóze neboli poruchám srážení krve, které má na svědomí tkáňový faktor (TF), který je v plicích produkován alveolárními epiteliálními buňkami (Bastarache *et al.*, 2007) (Helms *et al.*, 2020). Konstitutivně aktivovaný STAT3 zprostředkovává zvýšenou produkci CRP, který posléze indukuje TF, který reguluje přeměnu protrombinu na trombin a ten dále mění fibrinogen na fibrin a dochází ke vzniku krevních sraženin (Zhang *et al.*, 1996) (Toschi *et al.*, 1997). Z průzkumů plyne, že s obtížnějšími průběhy COVIDu-19 a častější mortalitou se setkáváme u lidí vyššího věku, u mužů, u lidí s hypertenzí, diabetem nebo u jedinců obézních (Richardson *et al.*, 2020).

5. Terapeutický potenciál farmakologického ovlivnění STAT3 signální dráhy

Protože se u STAT3 ukázala zásadní role v různých patologiích, je cílem výzkumu vývoj inhibitorů již nějakou dobu. Tyto inhibitory můžeme získávat synteticky nebo z přírodních zdrojů a můžeme je rozdělit na ty, které buď inhibují přímo STAT3 (např. DBD nebo SH2 doménu), anebo nepřímo jednu ze složek této signální kaskády a to buď upstream STAT3 (JAK, Src a RTK kinázy), anebo downstream STAT3, která vede k ovlivnění exprese genů. Dále je můžeme dělit i podle struktury na peptidy, nepeptidové malé molekuly, oligonukleotidy nebo protilátky. V následujícím textu jsou ukázány jen některé příklady a pro přehlednost jsou tyto příklady uspořádány v **Tabulce 5**. Pokud dojde k inhibici SH2 domény, je STAT3 znemožněna aktivace a tvorba dimerů a do této skupiny inhibitorů patří např. peptidový inhibitor **PY*LKTK**, kde Y* znázorňuje fosfotyrosin, který se získává z AMK sekvence SH2 domény STAT3 a funguje tak, že se naváže na STAT3, čímž znemožňuje tvorbu dimerů, testováno *in vitro* i *in vivo* (Turkson *et al.*, 2001). Nevýhodou peptidových inhibitorů je nízká stabilita a jejich slabá prostupnost přes buněčnou membránu právě kvůli fosfotyrosinu, což limituje jejich klinické využití (Turkson *et al.*, 2004). Dalším příkladem inhibice v místě SH2 domény je malá molekula **S3I-1757**, která byla zkoumána na buňkách rakoviny prsu *in vitro*. Tato látka inhibuje dimerizaci STAT3, jejím cílem je SH2 doména, a také brání navázání STAT3 na EGFR. To znamená, že kromě dimerizace, brání i transportu do jádra (Zhang *et al.*, 2013). Mezi inhibitory SH2 domény patří dále i malé molekuly **Stattic** (Schust *et al.*, 2006), **BP-1-102** (Jiang *et al.*, 2019), **LLL-3** (Fuh *et al.*, 2009) nebo **OBP-51602** (Wong *et al.*, 2015). K blokování vazby STAT3 na DNA se používají i tzv. **oligodeoxynukleotidové návny** (**ODN**), což jsou syntetické dvouvláknové sekvence odvozené od konzervovaných genomových regulačních prvků, které STAT3 rozpozná a naváže se na ně, což bylo ukázáno u HNSCC nádorových buněk (Sen *et al.*, 2012). Na buněčných liniích u rakoviny prsu nebo u adenokarcinomu tlustého střeva bylo ukázáno, že existují **ODN** bránící STAT3 v transportu do jádra a to tak, že se naváží na povrch STAT3, neumožní mu vazbu na importiny a STAT3 je v důsledku toho „lapan“ v cytoplazmě (Souissi *et al.*, 2011). **Platinové sloučeniny**, např. **IS3 295**, jsou *in vitro* také schopné potlačovat DNA-vazebnou aktivitu STAT3, což bylo zkoumáno u několika typů rakovin, např. prsu, slinivky nebo prostaty (Turkson *et al.*, 2005). Vazbu STAT3 DBD na DNA ovlivňují i malé molekuly **napabucasin** neboli **BBI608** a **inS3-54** nebo peptidový aptamer **DBD-1** tím, že se váží právě na DNA-vázající doménu (Nagel-Wolfrum *et al.*, 2004) (Huang *et al.*, 2014) (Jonker *et al.*, 2018). Cílem inhibice může být i TAD a SH2 doména STAT3 a v tomto místě působí peptidový aptamer **rS3-PA**, který snižuje fosforylaci na Tyr705 a Ser727 (Weber *et al.*, 2012). V souvislosti s nepřímým cílováním STAT3 může být inhibována JAK kináza např. pomocí **AZD1480**, který kompetuje s ATP a inhibuje JAK1 nebo JAK2, čímž snižuje aktivaci STAT3, jak bylo ukázáno na modelech solidních nádorů jako NB, RMS a ESFT (Yan, Li and Thiele, 2013).

A ačkoliv se jedná o slibný způsob, co se týče protinádorové terapie, není zatím **AZD1480** používán, protože jedna studie uvedla, že u některých pacientů s myelofibrózou vyvolala tato látka neurologické potíže, jejichž podstata není známa (Verstovsek *et al.*, 2015). Ale již schválenou látkou pro léčbu myelofibrózy je malá molekula **ruxolitinib**, který také tlumí aktivaci STAT3 na základě inhibice JAK1/2 kinázy (Verstovsek *et al.*, 2012). Dalšími potencionálními inhibitory na úrovni JAK kináz a kompetitoři ATP jsou malé molekuly **CEP-701** patřící do třídy alkaloidů a zkoumaný na modelech myelofibrózy (Santos *et al.*, 2010), **pacritinib (SB1518)** testovaný na modelech akutní myeloidní leukémie (Hart *et al.*, 2011) nebo **CYT387** patřící do skupiny fenylaminopyrimidinů, který byl testovaný na buněčných liniích MM (Burns *et al.*, 2009) (Monaghan *et al.*, 2011). Kromě JAK kináz se využívá i inhibice Src kináz, jako je tomu v případě látky **dasatinib** (Das *et al.*, 2006), **saracatinib** (Fujisaka *et al.*, 2013) nebo **bosutinib** (Steinbach, Clark and Clemmons, 2013), které řadíme také k malým molekulám. Posledním zmíněným příkladem v rámci nepřímé inhibice upstream STAT3, je inhibice receptor-tyrosinových kináz, např. EGFR látkou **cetuximab**, což je monoklonální protilátka, která se váže na EGFR a brání navázání jeho ligandu (Luca *et al.*, 2014). Růst nádoru vyžaduje, aby STAT3 potlačoval expresi genu **p53**, což je tumor-supresorový gen, a proto jsou vyvíjeny inhibitory STAT3, protože poté **p53** může zprostředkovávat apoptózu a má antiproliferační účinky (Niu *et al.*, 2005). Další možností inhibice STAT3 je degradace jeho mRNA pomocí **siRNA**, dochází ke snížení produkce antiapoptických proteinů jako Bcl-xL nebo Bcl-2 v důsledku sníženého množství STAT3 a je tak podpořena apoptóza u některých typů nádorových buněk, např. u rakoviny prsu nebo hrtanu (Gao *et al.*, 2005) (Kunigal *et al.*, 2009). Všechny dosavadní příklady inhibitorů byly zástupci látek syntetizovaných, nicméně samotná příroda nám nabízí širokou škálu zdrojů pro další vývoj inhibitorů, a navíc se ukázalo, že látky odvozené od přírodních zdrojů, vykazují nízký toxický profil a jsou schopné spolupůsobit s dalšími protinádorovými látkami (Molnár *et al.*, 2010). Příklady takových látek jsou **butein** - získávaný z keshu a inhibující JAK a c-Src (Rajendran, Ong, *et al.*, 2011), **kapsaicin** – alkaloid získávaný z chilli papriček a inhibující JAK1 a c-Src (Bhutani *et al.*, 2007), **celastrol** – získávaný z čínské rostliny *Triptegyrum wilfordii* a inhibující JAK2 a c-Src (Rajendran *et al.*, 2012), **γ-tokotrienol** – zástupce superrodiny vitamínu E inhibující JAK1/2 a c-Src, ale také naopak stimulující funkce fosfatázy SHP-1, čímž dále snižuje hladinu aktivovaného STAT3 (Rajendran, Li, *et al.*, 2011) nebo **garcinol** – polyizoprenylovaný benzofenon získávaný ze sušené kůry *Garcinia indica*, který se váže na SH2 doménu a brání dimerizaci STAT3 a mimo to ještě inhibuje acetylaci STAT3, čímž snižuje schopnost vázat se na DNA, což bylo testováno u různých HCC buněčných linií *in vivo* i *in vitro* (Sethi *et al.*, 2014).

Tabulka 5: Přehled inhibitorů STAT3 (vlastní zpracování)

	Struktura	Inhibitor	Místo účinku
A) Syntetizované	Přímé inhibitory		
	peptid	PY*LTKK	SH2 doména STAT3
	peptid	DBD-1	DBD STAT3
	peptid	rS3-PA	TAD, SH2 doména STAT3
	oligonukleotidy	ODN	DBD STAT3
	platinové sloučeniny	IS3 295	DBD STAT3
	malá molekula	S3I-1757	SH2 doména STAT3
	malá molekula	Stattic	SH2 doména STAT3
	malá molekula	BP-1-102	SH2 doména STAT3
	malá molekula	LLL-3	SH2 doména STAT3
	malá molekula	OPB-51602	SH2 doména STAT3
	malá molekula	napabucasin/BBI608	DBD STAT3
	malá molekula	inS3-54	DBD STAT3
	Nepřímé inhibitory		
	malá molekula	AZD1480	JAK kináza
	malá molekula	ruxolitinib	JAK kináza
	malá molekula	CEP-701	JAK kináza
	malá molekula	pacritinib/SB1518	JAK kináza
	malá molekula	CYT387	JAK kináza
	malá molekula	dasatinib	Src kináza
	malá molekula	saracatinib	Src kináza
	malá molekula	bosutinib	Src kináza
	monoklonální protilátka	cetuximab	EGFR
	siRNA	siRNA	mRNA STAT3
B) Přírodní	Přímé inhibitory		
	malá molekula	garcinol	SH2 doména STAT3
	Nepřímé inhibitory		
	malá molekula	butein	JAK, c-Src kináza
	malá molekula	kapsaicin	JAK, c-Src kináza
	malá molekula	celastrol	JAK, c-Src kináza
	malá molekula	γ-tokotrienol	JAK, c-Src kináza, SHP-1 fosfatáza

6. Závěr

STAT3 je molekula patřící do proteinové rodiny STAT, což jsou proteiny schopné přenášet signál přes cytosol do jádra, navázat se na specifickou sekvenci v DNA a fungovat jako transkripční faktory. STAT3 za fyziologických podmínek slouží organismu pozitivně v procesech regulace buněčné proliferace, diferenciaci, apoptózy, angiogeneze i v imunitních procesech a pokusy na myších ukázaly, že bez této molekuly objekty zahynuly již během časně embryogeneze.

Na druhou stranu může být STAT3, v případě aberantní regulace nebo konstitutivní aktivace, příčinou vzniku patologií, včetně rakoviny. Tyto příčiny mohou být různého původu a podílejí se na vzniku zánětu, který může, v případě chronického zánětu, vést právě k indukci procesu, který stojí za rozvojem rakoviny. Spojitost mezi zánětem a rakovinou byla poprvé zmíněna již v druhé polovině 19. století a v posledních letech se jen potvrdila. Z hlediska mechanismů, které jsou odpovědné za tuto

spojitost, můžeme hovořit o vnější a vnitřní cestě. Vnější cestu mají na svědomí např. různé mikroorganismy jako bakterie a viry, ale i třeba nezdravý životní styl (kouření, alkohol) a vnitřní cesta je spojována s onkogeny, které mohou např. způsobovat mutace nebo tlumit tumor-supresorové geny, což následně vede k transformaci buněk, které produkují zánětlivé cytokiny a přispívají k vyvolání zánětu. Celý proces vede k formování nádorového mikroprostředí a je doprovázen neustálou produkcí cytokinů a migrací imunitních buněk do místa zánětu. Nádorové mikroprostředí je složeno nejen z buněk nádorových, ale i podpůrnými stromálními (fibroblasty, cévní a lymfatické buňky) a také imunitními buňkami (makrofágy, neutrofily, dendritické bb., NK bb., myeloidní supresorové bb., T-a B-lymfocyty) a ve všech těchto buňkách může být aberantně aktivován STAT3. Také v důsledku vysokých hladin IL-6 v prostředí dochází k produkci zánětlivých cytokinů. Velkou roli během tohoto procesu hrají vedle STAT3 i další transkripční faktory - NF- κ B a HIF- α . Souhra všech složek nádorového mikroprostředí vede k imunosupresi, inhibici apoptózy nebo ke zvýšení buněčné proliferace a angiogeneze. STAT3 v tomto kontextu funguje jako onkogen, nicméně může za určitých podmínek fungovat i jako tumor supresor. To znamená, že různé podmínky určují, jak se STAT3 bude chovat. Takovými podmínkami může být např. knockout určitých genů nebo vliv chemických látek.

STAT3 se uplatňuje i v řadě virových mechanismů DNA i RNA virů a to jak pro viry pozitivně, tak i negativně. Z pro viry pozitivního hlediska se díky STAT3 např. zvýší virová replikace a potlačují se funkce imunitních buněk, jako tomu např. u HBV, HCV, HCMV, EBV nebo HIV. V opačném případě STAT3 např. udržuje vir v latentním stavu, čímž zabraňuje patogenezi, ale tyto viry mají vyvinuté strategie, jak STAT3 tlumit, jako je tomu v případě IAV, HSV nebo u viru spalniček a příušnic. Jak už jsem zmínila výše, všechny viry jsou podnětem pro vznik různých infekcí a některé z nich mohu nakonec vést k indukci kancerogeneze, protože během těchto byla zaznamenána zvýšená aktivace STAT3, jako je tomu např. u HBV a HCV, jejichž chronická infekce vede k rozvoji hepatocelulárního karcinomu (HCC) nebo u KSHV způsobujícího Kaposiho sarkom.

Patologická aktivace STAT3 signální dráhy tedy hraje roli jak při vzniku nádorů, tak u virových infekcí. U nádorů může být STAT3 aktivován ve všech buněčných složkách nádorového mikroprostředí, včetně imunitních buněk, podílí se na imunosupresi v nádorovém mikroprostředí, umožňuje nádorovým buňkám proliferovat a podporuje progresi rakoviny. Během virové infekce se STAT3 podílí na imunitní odpovědi, nicméně tyto funkce mohou být virem narušeny, STAT3 je aberantně regulován (u některých virů dochází k inhibici, u některých naopak k aktivaci STAT3) a působí tak ve prospěch viru, čímž napomáhá rozvoji různých patologií, mimo jiné i rakoviny.

Protože STAT3 signální dráha hraje při rozvoji patologií zásadní roli, způsoby její inhibice jsou předmětem mnoha studií posledních několik desítek let. Inhibitory mohou být chemicky syntetizované látky ale i látky dostupné z různých přírodních zdrojů a jejich schopnost inhibice je buď přímo mířená na některou z domén molekuly STAT3, anebo je cílem inhibice upstream STAT3 některá z kináz jako

JAK, Src nebo různé receptor tyrosinové kinázy a downstream STAT3 může např. docházet k degradaci mRNA STAT3 aktivovaných genů. Inhibitory byly zkoumány většinou na buněčných modelech *in vitro*, kde vykazovaly pozitivní účinek a až poté se ukázalo, že ale některé z inhibitorů vyvinuly u lidských pacientů i různé negativní účinky a proto každá z těchto látek musí projít důkladným výzkumem, než může být použita, a mnoho z těchto látek musí být nakonec vyřazeno. Dalším problémem je i nalezení kritérií (např. typ a genetické pozadí nádoru), kdy bude použití inhibitorů mít terapeutický účinek. Ale i tak má do budoucna výzkum těchto inhibitorů velký význam pro jejich potenciál v boji proti rakovině a dalším chronickým chorobám i následkům některých infekcí.

7. Literatura

- Antwerp, D. J. van et al. (1996)** 'Suppression of TNF- α -induced apoptosis by NF- κ B', *Science*, 274(5288), pp. 787–789.
- Azare, J. et al. (2007)** 'Constitutively Activated Stat3 Induces Tumorigenesis and Enhances Cell Motility of Prostate Epithelial Cells through Integrin β 6', *Molecular and Cellular Biology*, 27(12), pp. 4444–4453.
- *Balkwill, F. and Mantovani, A. (2001)** 'Inflammation and cancer: Back to Virchow?', *Lancet*, 357(9255), pp. 539–545.
- Bastarache, J. A. et al. (2007)** 'The alveolar epithelium can initiate the extrinsic coagulation cascade through expression of tissue factor', *Thorax*, 62(7), pp. 608–616.
- Battle, T. and Frank, D. (2005)** 'The Role of STATs in Apoptosis', *Current Molecular Medicine*, 2(4), pp. 381–392.
- Bazan, J. F. (1991)** 'Neurotrophic cytokines in the hematopoietic fold', *Neuron*, 7(2), pp. 197–208.
- Beck-Schimmer, B. et al. (2005)** 'Alveolar macrophages regulate neutrophil recruitment in endotoxin-induced lung injury', *Respiratory Research*, 6(61), pp. 1–14.
- Becker, C. et al. (2004)** 'TGF- β suppresses tumor progression in colon cancer by inhibition of IL-6 trans-signaling', *Immunity*, 21(4), pp. 491–501.
- Bergers, G. et al. (2000)** 'Matrix metalloproteinase-9 triggers the angiogenic switch during carcinogenesis', *Nature Cell Biology*, 2(10), pp. 737–744.
- Bhutani, M. et al. (2007)** 'Capsaicin is a novel blocker of constitutive and interleukin-6 - Inducible STAT3 activation', *Clinical Cancer Research*, 13(10), pp. 3024–3032.
- Bild, A. H., Turkson, J. and Jove, R. (2002)** 'Cytoplasmic transport of Stat3 by receptor-mediated endocytosis', *EMBO Journal*, 21(13), pp. 3255–3263.
- Bollrath, J. et al. (2009)** 'gp130-Mediated Stat3 Activation in Enterocytes Regulates Cell Survival and Cell-Cycle Progression during Colitis-Associated Tumorigenesis', *Cancer Cell*, 15(2), pp. 91–102.
- Böttcher, J. P. et al. (2018)** 'NK Cells Stimulate Recruitment of cDC1 into the Tumor Microenvironment Promoting Cancer Immune Control', *Cell*, 172(5), pp. 1022–1037.
- Brantley, E. C. et al. (2008)** 'Loss of protein inhibitors of activated STAT-3 expression in glioblastoma multiforme tumors: Implications for STAT-3 activation and gene expression', *Clinical Cancer Research*, 14(15), pp. 4694–4704.
- Burns, C. J. et al. (2009)** 'Phenylaminopyrimidines as inhibitors of Janus kinases (JAKs)', *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 19(20), pp. 5887–5892.
- Butturini, E. et al. (2014)** 'S-glutathionylation at Cys328 and Cys542 impairs STAT3 phosphorylation', *ACS Chemical Biology*, 9(8), pp. 1885–1893.
- Cao, X. et al. (1996)** 'Activation and association of Stat3 with Src in v-Src-transformed cell lines.', *Molecular and Cellular Biology*, 16(4), pp. 1595–1603.
- Carmeliet, P. (2005)** 'VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer', *Oncology*, 69(3), pp. 4–10.
- *Carpenter, R. L. and Lo, H. W. (2014)** 'STAT3 target genes relevant to human cancers', *Cancers*, 6(2), pp. 897–925.
- Catlett-Falcone, R. et al. (1999)** 'Constitutive activation of Stat3 signaling confers resistance to apoptosis in human U266 myeloma cells', *Immunity*, 10(1), pp. 105–115.
- Chaluvally-Raghavan, P. et al. (2016)** 'Direct Upregulation of STAT3 by MicroRNA-551b-3p Deregulates Growth and Metastasis of Ovarian Cancer', *Cell Reports*, 15(7), pp. 1493–1504.
- Chandra, V. et al. (2008)** 'The Hepatitis E Virus ORF3 Protein Modulates Epidermal Growth Factor Receptor Trafficking, STAT3 Translocation, and the Acute-Phase Response', *Journal of Virology*, 82(14), pp. 7100–7110.
- *Chang, Z. et al. (2018)** 'STAT3 roles in viral infection: Antiviral or proviral?', *Future Virology*, 13(8), pp. 557–574.

- Ching, R. H. H. et al. (2017)** 'C-terminal truncated hepatitis B virus X protein regulates tumorigenicity, self-renewal and drug resistance via STAT3/ Nanog signaling pathway', *Oncotarget*, 8(14), pp. 23507–23516.
- Chomarat, P. et al. (2000)** 'IL-6 switches the differentiation of monocytes from dendritic cells to macrophages', *Nature Immunology*, 1(6), pp. 510–514.
- Chou, C. H. et al. (2009)** 'Synergistic Effect of Radiation and Interleukin-6 on Hepatitis B Virus Reactivation in Liver Through STAT3 Signaling Pathway', *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 75(5), pp. 1545–1552.
- Chucair-Elliott, A. J. et al. (2014)** 'Microglia-induced IL-6 protects against neuronal loss following HSV-1 infection of neural progenitor cells', *Glia*, 62(9), pp. 1418–1434.
- Chung, C. D. et al. (1997)** 'Specific inhibition of Stat3 signal transduction by PIAS3', *Science*, 278(5344), pp. 1803–1805.
- Chung, J. et al. (1997)** 'STAT3 serine phosphorylation by ERK-dependent and -independent pathways negatively modulates its tyrosine phosphorylation.', *Molecular and Cellular Biology*, 17(11), pp. 6508–6516.
- Colombo, M. P. et al. (1992)** 'Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) gene transduction in murine adenocarcinoma drives neutrophil-mediated tumor inhibition in vivo. Neutrophils discriminate between G-CSF-producing and G-CSF-nonproducing tumor cells.', *The Journal of Immunology*, 149(1), pp. 113–119.
- Copeland, N. G. et al. (1995)** 'Distribution of the mammalian stat gene family in mouse chromosomes', *Genomics*, 29(1), pp. 225–228.
- Del Corno, M. et al. (2014)** 'HIV-1 gp120 Activates the STAT3/Interleukin-6 Axis in Primary Human Monocyte-Derived Dendritic Cells', *Journal of Virology*, 88(19), pp. 11045–11055.
- Coussens, L. M. et al. (1999)** 'Inflammatory mast cells up-regulate angiogenesis during squamous epithelial carcinogenesis', *Genes and Development*, 13(11), pp. 1382–1397.
- Coussens, L. M. et al. (2000)** 'MMP-9 supplied by bone marrow-derived cells contributes to skin carcinogenesis', *Cell*, 103(3), pp. 481–490.
- *Coussens, L. M. and Werb, Z. (2002)** 'Inflammation and cancer', *Nature*, 420, pp. 860–867.
- Cuvier, C., Jang, A. and Hill, R. P. (1997)** 'Exposure to hypoxia, glucose starvation and acidosis: Effect on invasive capacity of murine tumor cells and correlation with cathepsin (L + B) secretion', *Clinical and Experimental Metastasis*, 15(1), pp. 19–25.
- Daino, H. et al. (2000)** 'Induction of apoptosis by extracellular ubiquitin in human hematopoietic cells: Possible involvement of STAT3 degradation by proteasome pathway in interleukin 6-dependent hematopoietic cells', *Blood*, 95(8), pp. 2577–2585.
- Danial, N. N., Pernis, A. and Rothman, P. B. (1995)** 'Jak-STAT signaling induced by the v-abl oncogene', *Science*, 269(5232), pp. 1875–1877.
- Darnell, James E. (1997)** 'STATs and gene regulation', *Science*, 277(5332), pp. 1630–1635.
- Darnell, J. E., Kerr, I. M. and Stark, G. R. (1994)** 'Jak-STAT Pathways and Transcriptional Activation in Response to IFNs and Other Extracellular Signaling Proteins Published by : American Association for the Advancement of Science', *Advancement Of Science*, 264(5164), pp. 1415–1421.
- Das, J. et al. (2006)** '2-Aminothiazole as a novel kinase inhibitor template. Structure-activity relationship studies toward the discovery of N-(2-chloro-6-methylphenyl)-2-[[6-[4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazinyl]-2-methyl-4-pyrimidinyl]amino]-1, 3-thiazole-5-carboxamide (Dasatinin)', *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(23), pp. 6819–6832.
- David, M. et al. (1995)** 'Differential regulation of the alpha/beta interferon-stimulated Jak/Stat pathway by the SH2 domain-containing tyrosine phosphatase SHPTP1.', *Molecular and Cellular Biology*, 15(12), pp. 7050–7058.
- David, M. et al. (1996)** 'STAT activation by epidermal growth factor (EGF) and amphiregulin: Requirement for the EGF receptor kinase but not for tyrosine phosphorylation sites or JAK1', *Journal of Biological Chemistry*, 271(16), pp. 9185–9188.
- Diao, B. et al. (2020)** 'Reduction and Functional Exhaustion of T Cells in Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)', *Frontiers in Immunology*, 11(827), pp. 1–7.

DiLillo, D. J., Yanaba, K. and Tedder, T. F. (2010) 'B Cells Are Required for Optimal CD4 + and CD8 + T Cell Tumor Immunity: Therapeutic B Cell Depletion Enhances B16 Melanoma Growth in Mice', *The Journal of Immunology*, 184(7), pp. 4006–4016.

Domanski, P. et al. (1997) 'A region of the β subunit of the interferon α receptor different from Box 1 interacts with Jak1 and is sufficient to activate the Jak-Stat pathway and induce an antiviral state', *Journal of Biological Chemistry*, 272(42), pp. 26388–26393.

Du, T., Zhou, G. and Roizman, B. (2013) 'Modulation of reactivation of latent herpes simplex virus 1 in ganglionic organ cultures by p300/CBP and STAT3', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(28), pp. 2621–2628.

Erez, N. et al. (2010) 'Cancer-Associated Fibroblasts Are Activated in Incipient Neoplasia to Orchestrate Tumor-Promoting Inflammation in an NF- κ B-Dependent Manner', *Cancer Cell*, 17(2), pp. 135–147.

Ernst, M. et al. (2008) 'STAT3 and STAT1 mediate IL-11-dependent and inflammation-associated gastric tumorigenesis in gp130 receptor mutant mice', *Journal of Clinical Investigation*, 118(5), pp. 1727–1738.

Eyking, A. et al. (2011) 'Toll-like receptor 4 variant D299G induces features of neoplastic progression in Caco-2 intestinal cells and is associated with advanced human colon cancer', *Gastroenterology*, 141(6), pp. 2154–2165.

Fang, Z. et al. (2015) 'Polarization of Monocytic Myeloid-Derived Suppressor Cells by Hepatitis B Surface Antigen Is Mediated via ERK/IL-6/STAT3 Signaling Feedback and Restrains the Activation of T Cells in Chronic Hepatitis B Virus Infection', *The Journal of Immunology*, 195(10), pp. 4873–4883.

Fasan, A. et al. (2012) 'STAT3 Mutations in Large Granular Lymphocytic Leukemia', *Blood*, 120(21), pp. 1606–1606.

Fauci, A. S. (1988) 'The Human Immunodeficiency Virus : Infectivity and Mechanisms of Pathogenesis Immunopathogenic Mechanisms of HIV', *Science*, 239(4840), pp. 617–622.

Fuh, B. et al. (2009) 'LLL-3 inhibits STAT3 activity, suppresses glioblastoma cell growth and prolongs survival in a mouse glioblastoma model', *British Journal of Cancer*, 100(1), pp. 106–112.

Fujisaka, Y. et al. (2013) 'First report of the safety, tolerability, and pharmacokinetics of the Src kinase inhibitor saracatinib (AZD0530) in Japanese patients with advanced solid tumours', *Investigational New Drugs*, 31(1), pp. 108–114.

Furtek, S. L. et al. (2016) 'Strategies and Approaches of Targeting STAT3 for Cancer Treatment', *ACS Chemical Biology*, 11, pp. 308–318.

Gao, L. F. et al. (2005) 'Inhibition of STAT3 expression by siRNA suppresses growth and induces apoptosis in laryngeal cancer cells', *Acta Pharmacologica Sinica*, 26(3), pp. 377–383.

Gao, S. P. et al. (2007) 'Mutations in the EGFR kinase domain mediate STAT3 activation via IL-6 production in human lung adenocarcinomas', *Journal of Clinical Investigation*, 117(12), pp. 3846–3856.

Garcia, R. et al. (1997) 'Constitutive activation of Stat3 in fibroblasts transformed by diverse oncoproteins and in breast carcinoma cells', *Cell Growth and Differentiation*, 8(12), pp. 1267–1276.

Garcia, R. et al. (2001) 'Constitutive activation of Stat3 by the Src and JAK tyrosine kinases participates in growth regulation of human breast carcinoma cells', *Oncogene*, 20, pp. 2499–2513.

Gauldie, J. et al. (1987) 'Interferon beta 2/B-cell stimulatory factor type 2 shares identity with monocyte-derived hepatocyte-stimulating factor and regulates the major acute phase protein response in liver cells', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 84(20), pp. 7251–7255.

Gearing, D. P. et al. (1987) 'Molecular cloning and expression of cDNA encoding a murine myeloid leukaemia inhibitory factor (LIF)', *The EMBO journal*, 6(13), pp. 3995–4002.

Gong, G. et al. (2001) 'Human hepatitis C virus NS5A protein alters intracellular calcium levels, induces oxidative stress, and activates STAT-3 and NF- κ B', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(17), pp. 9599–9604.

Goonewardene, T. I., Sowter, H. M. and Harris, A. L. (2002) 'Hypoxia-induced pathways in breast cancer', *Microscopy Research and Technique*, 59(1), pp. 41–48.

Görlich, D. and Kutay, U. (1999) 'Transport between the cell nucleus and the cytoplasm', *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 15, pp. 607–660.

Gotoh, A. et al. (1996) 'Steel factor induces serine phosphorylation of Stat3 in human growth factor-dependent myeloid cell lines', *Blood*, 88(1), pp. 138–145.

Greten, F. R. et al. (2004) 'IKK β links inflammation and tumorigenesis in a mouse model of colitis-associated cancer', *Cell*, 118(3), pp. 285–296.

Grivennikov, S. et al. (2009) 'IL-6 and Stat3 Are Required for Survival of Intestinal Epithelial Cells and Development of Colitis-Associated Cancer', *Cancer Cell*, 15(2), pp. 103–113.

***Guanizo, A. C. et al. (2018)** 'STAT3: a multifaceted oncoprotein', *Growth Factors*, 36(1–2), pp. 1–14.

Guillet-Deniau, I., Burnol, A. F. and Girard, J. (1997) 'Identification and localization of a skeletal muscle serotonin 5-HT_{2A} receptor coupled to the Jak/STAT pathway', *Journal of Biological Chemistry*, 272(23), pp. 14825–14829.

Gulumian, M. (1999) 'The role of oxidative stress in diseases caused by mineral dusts and fibres: Current status and future of prophylaxis and treatment', *Molecular and Cellular Biochemistry*, 196(1–2), pp. 69–77.

Haan, S. et al. (2000) 'Cytoplasmic STAT proteins associate prior to activation', *Biochemical Journal*, 345(3), pp. 417–421.

Haegeman, G. et al. (1986) 'Structural analysis of the sequence coding for an inducible 26-kDa protein in human fibroblasts', *European Journal of Biochemistry*, 159(3), pp. 625–632.

Han, H. et al. (2020) 'Profiling serum cytokines in COVID-19 patients reveals IL-6 and IL-10 are disease severity predictors', *Emerging Microbes and Infections*, 9(1), pp. 1123–1130.

Hanahan, D. and Coussens, L. M. (2012) 'Accessories to the Crime: Functions of Cells Recruited to the Tumor Microenvironment', *Cancer Cell*, 21(3), pp. 309–322.

***Hanahan, D. and Weinberg, R. A. (2000)** 'The Hallmarks of Cancer', *Cell*, 100(1), pp. 57–70.

Hao, A. et al. (2005) 'The LIM/Homeodomain Protein Islet1 Recruits Janus Tyrosine Kinases and Signal Transducer and Activator of Transcription 3 and Stimulates Their Activities', *Molecular Biology of the Cell*, 16, pp. 1569–1583.

Hart, S. et al. (2011) 'Pacritinib (SB1518), a JAK2/FLT3 inhibitor for the treatment of acute myeloid leukemia', *Blood Cancer Journal*, 1(11), pp. 1–9.

He, P. et al. (2013) 'Hepatitis B virus X protein modulates apoptosis in human renal proximal tubular epithelial cells by activating the JAK2/STAT3 signaling pathway', *International Journal of Molecular Medicine*, 31(5), pp. 1017–1029.

Helms, J. et al. (2020) 'High risk of thrombosis in patients with severe SARS-CoV-2 infection: a multicenter prospective cohort study', *Intensive Care Medicine*, 46(6), pp. 1089–1098.

Hicks, A. M. et al. (2006) 'Transferable anticancer innate immunity in spontaneous regression/complete resistance mice', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(20), pp. 7753–7758.

Hill, E. R. et al. (2013) 'Signal Transducer and Activator of Transcription 3 Limits Epstein-Barr Virus Lytic Activation in B Lymphocytes', *Journal of Virology*, 87(21), pp. 11438–11446.

Hilton, D. J. (2000) '1999 CMLS Hilton, Negative regulators of cytokine signal transduction', *Cellular and molecular life sciences*, 55(12), pp. 1568–1577.

Hirano, T. et al. (1985) 'Purification to homogeneity and characterization of human B-cell differentiation factor (BCDF or BSFp-2)', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 82(16), pp. 5490–5494.

Hirano, T. et al. (1986) 'Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin', *Nature*, 324(6092), pp. 73–76.

Hirano, T., Ishihara, K. and Hibi, M. (2000) 'Roles of STAT3 in mediating the cell growth, differentiation and survival signals relayed through the IL-6 family of cytokine receptors', *Oncogene*, 19(21), pp. 2548–2556.

Ho, H. H. and Ivashkiv, L. B. (2006) 'Role of STAT3 in type I interferon responses: Negative regulation of STAT1-dependent inflammatory gene activation', *Journal of Biological Chemistry*, 281(20), pp. 14111–14118.

Hossain, D. M. S. et al. (2013) 'FoxP3 Acts as a Cotranscription Factor with STAT3 in Tumor-Induced Regulatory T Cells', *Immunity*, 39(6), pp. 1057–1069.

Hotchkiss, K. A. et al. (2003) 'Mechanisms by which tumor cells and monocytes expressing the angiogenic factor thymidine phosphorylase mediate human endothelial cell migration', *Cancer Research*, 63(2), pp. 527–533.

Hsia, H.-C. et al. (2017) 'Signal transducer and activator of transcription 3 (Stat3) regulates host defense and protects mice against herpes simplex virus-1 (HSV-1) infection', *Journal of Leukocyte Biology*, 101(4), pp. 1053–1064.

Huang, B. et al. (2006) 'Gr-1+CD115+ immature myeloid suppressor cells mediate the development of tumor-induced T regulatory cells and T-cell anergy in tumor-bearing host', *Cancer Research*, 66(2), pp. 1123–1131.

Huang, W. et al. (2014) 'A small molecule compound targeting STAT3 DNA-binding domain inhibits cancer cell proliferation, migration, and invasion', *ACS Chemical Biology*, 9(5), pp. 1188–1196.

Hui, K. P. Y. et al. (2016) 'Highly pathogenic avian influenza H5N1 virus delays apoptotic responses via activation of STAT3', *Scientific Reports*, 6(1), pp. 1–13.

Hung, K. et al. (1998) 'The Central Role of CD4+ T Cells in the Antitumor Immune Response', *J Exp Med*, 188(12), pp. 2357–2368.

Iglesia, N. D. La et al. (2008) 'Identification of a PTEN-regulated STAT3 brain tumor suppressor pathway', *Genes and Development*, 22(4), pp. 449–462.

Incrocci, R. et al. (2017) 'Epstein-Barr Virus Latent Membrane Protein 2A (LMP2A) enhances IL-10 production through the activation of Bruton's tyrosine kinase and STAT3', *Virology*, 500(2017), pp. 96–102.

Iyer, N. V. et al. (1998) 'Cellular and developmental control of O₂ homeostasis by hypoxia-inducible factor 1 α ', *Genes and Development*, 12(2), pp. 149–162.

Jaeschke, H. and Smith, C. W. (1997) 'Mechanisms of neutrophil-induced parenchymal cell injury', *Journal of Leukocyte Biology*, 61(6), pp. 647–653.

Jans, D. A., Xiao, C. Y. and Lam, M. H. C. (2000) 'Nuclear targeting signal recognition: A key control point in nuclear transport?', *BioEssays*, 22(6), pp. 532–544.

Jia, D. et al. (2010) 'Influenza virus non-structural protein 1 (NS1) disrupts interferon signaling', *PLoS ONE*, 5(11), pp. 1–13.

Jiang, X. et al. (2019) 'BP-1-102 exerts an antitumor effect on the AGS human gastric cancer cell line through modulating the STAT3 and MAPK signaling pathways', *Molecular Medicine Reports*, 19(4), pp. 2698–2706.

Johnston, L. K. et al. (2012) 'Pulmonary macrophage subpopulations in the induction and resolution of acute lung injury', *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 47(4), pp. 417–426.

Jonker, D. J. et al. (2018) 'Nabucasin versus placebo in refractory advanced colorectal cancer: a randomised phase 3 trial', *The Lancet Gastroenterology and Hepatology*, 3(4), pp. 263–270.

Ju, B. et al. (2020) 'Human neutralizing antibodies elicited by SARS-CoV-2 infection', *Nature*, 584(7819), pp. 115–119.

Judd, L. M. et al. (2006) 'STAT3 Activation Regulates Growth, Inflammation, and Vascularization in a Mouse Model of Gastric Tumorigenesis', *Gastroenterology*, 131(4), pp. 1073–1085.

Kalathil, S. et al. (2013) 'Higher frequencies of GARP+CTLA-4+Foxp3+T regulatory cells and myeloid-derived suppressor cells in hepatocellular carcinoma patients are associated with impaired T-cell functionality', *Cancer Research*, 73(8), pp. 2435–2444.

Kaplan, M. H. et al. (1996) 'Stat6 is required for mediating responses to IL-4 and for the development of Th2 cells', *Immunity*, 4(3), pp. 313–319.

Kim, E. et al. (2013) 'Phosphorylation of EZH2 Activates STAT3 Signaling via STAT3 Methylation and Promotes Tumorigenicity of Glioblastoma Stem-like Cells', *Cancer Cell*, 23(6), pp. 839–852.

King, C. A. (2013) 'Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus Kaposin B Induces Unique Monophosphorylation of STAT3 at Serine 727 and MK2-Mediated Inactivation of the STAT3 Transcriptional Repressor TRIM28', *Journal of Virology*, 87(15), pp. 8779–8791.

- Kishimoto, T. and Ishizaka, K. (1976)** 'Regulation of Antibody Response in Vitro', *The Journal of Immunology*, 116(2), pp. 534–541.
- Koganti, S. et al. (2015)** 'Cellular STAT3 Functions via PCBP2 To Restrain Epstein-Barr Virus Lytic Activation in B Lymphocytes', *Journal of Virology*, 89(9), pp. 5002–5011.
- Kong, L. et al. (2016)** 'Hepatitis C virus and its protein NS4B activate the cancer-related STAT3 pathway via the endoplasmic reticulum overload response', *Archives of Virology*, 161(8), pp. 2149–2159.
- Kong, X. et al. (2003)** 'Respiratory syncytial virus infection activates STAT signaling in human epithelial cells', *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 306(2), pp. 616–622.
- Kryczek, I. et al. (2009)** 'Phenotype, distribution, generation, and functional and clinical relevance of Th17 cells in the human tumor environments', *Blood*, 114(6), pp. 1141–1149.
- Kujawski, M. et al. (2008)** 'Stat3 mediates myeloid cell-dependent tumor angiogenesis in mice', *Journal of Clinical Investigation*, 118(10), pp. 3367–3377.
- Kung, C.-P., Meckes, D. G. and Raab-Traub, N. (2011)** 'Epstein-Barr Virus LMP1 Activates EGFR, STAT3, and ERK through Effects on PKC', *Journal of Virology*, 85(9), pp. 4399–4408.
- Kung, C.-P. and Raab-Traub, N. (2008)** 'Epstein-Barr Virus Latent Membrane Protein 1 Induces Expression of the Epidermal Growth Factor Receptor through Effects on Bcl-3 and STAT3', *Journal of Virology*, 82(11), pp. 5486–5493.
- Kunigal, S. et al. (2009)** 'Stat3-siRNA induces Fas-mediated apoptosis in vivo and in vitro in breast cancer', *International Journal of Oncology*, 34(5), pp. 1209–1220.
- Kuperwasser, C. et al. (2004)** 'Reconstruction of functionally normal and malignant human breast tissues in mice', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(14), pp. 4966–4971.
- Laouar, Y. et al. (2003)** 'STAT3 Is Required for Flt3L-Dependent Dendritic Cell Differentiation', *Immunity*, 19(6), pp. 903–912.
- De Larco, J. E., Wuertz, B. R. K. and Furcht, L. T. (2004)** 'The potential role of neutrophils in promoting the metastatic phenotype of tumors releasing interleukin-8', *Clinical Cancer Research*, 10(15), pp. 4895–4900.
- Lee, H. et al. (2010)** 'STAT3-induced S1PR1 expression is crucial for persistent STAT3 activation in tumors', *Nature Medicine*, 16(12), pp. 1421–1428.
- Lee, H. et al. (2012)** 'Acetylated STAT3 is crucial for methylation of tumor-suppressor gene promoters and inhibition by resveratrol results in demethylation', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(20), pp. 7765–7769.
- Leonard, W. J. (2001)** 'Role of JAK kinases and stats in cytokine signal transduction', *International Journal of Hematology*, 73(3), pp. 271–277.
- Lepiller, Q. et al. (2013)** 'HCMV Activates the IL-6-JAK-STAT3 Axis in HepG2 Cells and Primary Human Hepatocytes', *PLoS ONE*, 8(3), pp. 1–15.
- Lerner, L. et al. (2003)** 'STAT3-dependent enhanceosome assembly and disassembly: Synergy with GR for full transcriptional increase of the α 2-macroglobulin gene', *Genes and Development*, 17(20), pp. 2564–2577.
- Lewis, J. S. et al. (2000)** 'Expression of vascular endothelial growth factor by macrophages is up-regulated in poorly vascularized areas of breast carcinomas', *Journal of Pathology*, 192(2), pp. 150–158.
- Li, C. H. et al. (2014)** 'Hepatitis B virus X protein promotes hepatocellular carcinoma transformation through interleukin-6 activation of microRNA-21 expression', *European Journal of Cancer*, 50(15), pp. 2560–2569.
- Lim, C. P. and Cao, X. (1999)** 'Serine phosphorylation and negative regulation of Stat3 by JNK', *Journal of Biological Chemistry*, pp. 31055–31061.
- Lim, C. P. and Cao, X. (2001)** 'Regulation of Stat3 Activation by MEK Kinase 1', *Journal of Biological Chemistry*, 276(24), pp. 21004–21011.
- Liotta, L. A. and Kohn, E. C. (2001)** 'The microenvironment of the tumour-host interface', *Nature*, 411, pp. 375–379.

Liu, Robinson, G. W. et al. (1997) 'Stat5a is mandatory for adult mammary gland development and lactogenesis', *Genes & Development*, 11, pp. 179–186.

Liu, B. et al. (1998) 'Inhibition of Stat1-mediated gene activation by PIAS1', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(18), pp. 10626–10631.

Liu, R. et al. (2013) 'HIV infection in gastric epithelial cells', *Journal of Infectious Diseases*, 208(8), pp. 1221–1230.

Liu, S. et al. (2014) 'A microRNA 221- and 222-mediated feedback loop maintains constitutive activation of NFκB and STAT3 in colorectal cancer cells', *Gastroenterology*, 147(4), pp. 847–859.

Liu, Y. P. et al. (2008) 'Phosphorylation and nuclear translocation of STAT3 regulated by the Epstein-Barr virus latent membrane protein 1 in nasopharyngeal carcinoma', *International Journal of Molecular Medicine*, 21(2), pp. 153–162.

Liyanage, U. K. et al. (2002) 'Prevalence of Regulatory T Cells Is Increased in Peripheral Blood and Tumor Microenvironment of Patients with Pancreas or Breast Adenocarcinoma', *The Journal of Immunology*, 169(5), pp. 2756–2761.

Luca, T. et al. (2014) 'In vitro combined treatment with cetuximab and trastuzumab inhibits growth of colon cancer cells', *Cell Proliferation*, 47(5), pp. 435–447.

Luger, T. A. et al. (1989) 'Interleukin-6 Is Produced by Epidermal Cells and Plays an Important Role in the Activation of Human T-Lymphocytes and Natural Killer Cells', *Annals of the New York Academy of Sciences*, 557(1), pp. 405–414.

Lui, V. W. Y. et al. (2009) 'STAT3 activation contributes directly to Epstein-Barr virus-mediated invasiveness of nasopharyngeal cancer cells in vitro', *International Journal of Cancer*, 125(8), pp. 1884–1893.

Lütticken, C. et al. (1994) 'Association of transcription factor APRF and protein kinase Jak1 with the interleukin-6 signal transducer gp130', *Science*, 263(5143), pp. 89–92.

Ma, J. et al. (2003) 'A novel sequence in the coiled-coil domain of Stat3 essential for its nuclear translocation', *Journal of Biological Chemistry*, 278(31), pp. 29252–29260.

Ma, L. et al. (2014) 'Down-regulation of miRNA-204 by LMP-1 enhances CDC42 activity and facilitates invasion of EBV-associated nasopharyngeal carcinoma cells', *FEBS Letters*, 588(9), pp. 1562–1570.

Mackiewicz, A. et al. (1992) 'Complex of soluble human IL-6-receptor/IL-6 up-regulates expression of acute-phase proteins', *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 149(6), pp. 2021–2027.

Mahony, R. et al. (2017) 'A novel anti-viral role for STAT3 in IFN-α signalling responses', *Cellular and Molecular Life Sciences*, 74(9), pp. 1755–1764.

Malik, N. et al. (1989) 'Molecular cloning, sequence analysis, and functional expression of a novel growth regulator, oncostatin M', *Molecular and Cellular Biology*, 9(7), pp. 2847–2853.

***Mantovani, A. et al. (2008)** 'Cancer-related inflammation', *Nature*, 454(7203), pp. 436–444.

Mao, W. et al. (1997) 'Activation of c-Src by receptor tyrosine kinases in human colon cancer cells with high metastatic potential', *Oncogene*, 15(25), pp. 3083–3090.

***Matsuyama, T. et al. (2020)** 'An aberrant STAT pathway is central to COVID-19', *Cell Death and Differentiation*, 27(12), pp. 3209–3225.

Mazzoni, A. et al. (2002) 'Myeloid Suppressor Lines Inhibit T Cell Responses by an NO-Dependent Mechanism', *The Journal of Immunology*, 168(2), pp. 689–695.

Mccartney, E. M. et al. (2013) 'Signal transducer and activator of transcription 3 is a proviral host factor for hepatitis C virus', *Hepatology*, 58(5), pp. 1558–1568.

McLemore, M. L. et al. (2001) 'STAT-3 activation is required for normal G-CSF-dependent proliferation and granulocytic differentiation', *Immunity*, 14(2), pp. 193–204.

Mertens, C. et al. (2015) 'Mutations in the linker domain affect phospho-STAT3 function and suggest targets for interrupting STAT3 activity', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(52), pp. 14811–14816.

Mitzel, D. N. et al. (2014) 'Human metapneumovirus inhibits the IL-6-induced JAK/STAT3 signalling cascade in airway epithelium', *Journal of General Virology*, 95(1), pp. 26–37.

Mizukami, Y. et al. (2005) 'Induction of interleukin-8 preserves the angiogenic response in HIF-1α-deficient colon cancer cells', *Nature Medicine*, 11(9), pp. 992–997.

Mizutani, T. et al. (2004) 'Tyrosine dephosphorylation of STAT3 in SARS coronavirus-infected Vero E6 cells', *FEBS Letters*, 577(1–2), pp. 187–192.

Molnár, J. et al. (2010) 'Reversal of multidrug resistance by natural substances from plants', *Current topics in medicinal chemistry*, 10(17), pp. 1757–68.

Monaghan, K. A. et al. (2011) 'The novel JAK inhibitor CYT387 suppresses multiple signalling pathways, prevents proliferation and induces apoptosis in phenotypically diverse myeloma cells', *Leukemia*, 25(12), pp. 1891–1899.

Mosmann, T. R. et al. (1986) 'Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins', *The Journal of Immunology*, 136(7), pp. 2348–2357.

Muromoto, R. et al. (2009) 'Epstein-Barr virus-derived EBNA2 regulates STAT3 activation', *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 378(3), pp. 439–443.

Nagel-Wolfrum, K. et al. (2004) 'The interaction of specific peptide aptamers with the DNA binding domain and the dimerization domain of the transcription factor Stat3 inhibits transactivation and induces apoptosis in tumor cells', *Molecular Cancer Research*, 2(3), pp. 170–182.

Naka, T. et al. (1997) 'Structure and function of a new STAT-induced STAT inhibitor', *Nature*, 387(6636), pp. 924–929.

Ndubuisi, M. I. et al. (1999) 'Cellular physiology of STAT3: Where's the cytoplasmic monomer?', *Journal of Biological Chemistry*, 274(3), pp. 25499–25509.

Nicholson, S. E. et al. (2000) 'Suppressor of cytokine signaling-3 preferentially binds to the SHP-2-binding site on the shared cytokine receptor subunit gp130', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(12), pp. 6493–6498.

Niedbala, W. et al. (2007) 'IL-35 is a novel cytokine with therapeutic effects against collagen-induced arthritis through the expansion of regulatory T cells and suppression of Th17 cells', *European Journal of Immunology*, 37(11), pp. 3021–3029.

Niu, G. et al. (2002) 'Constitutive Stat3 activity up-regulates VEGF expression and tumor angiogenesis', *Oncogene*, 21(13), pp. 2000–2008.

Niu, G. et al. (2005) 'Role of Stat3 in Regulating p53 Expression and Function', *Molecular and Cellular Biology*, 25(17), pp. 7432–7440.

Novak, U. et al. (1995) 'Colony-stimulating factor 1-induced STAT1 and STAT3 activation is accompanied by phosphorylation of Tyk2 in macrophages and Tyk2 and JAK1 in fibroblast', *Blood*, 86(8), pp. 2948–2956.

Novak, U. et al. (1998) 'STAT3 forms stable homodimers in the presence of divalent cations prior to activation', *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 247(3), pp. 558–563.

Nozawa, H., Chiu, C. and Hanahan, D. (2006) 'Infiltrating neutrophils mediate the initial angiogenic switch in a mouse model of multistage carcinogenesis', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(33), pp. 12493–12498.

Numasaki, M. et al. (2003) 'Interleukin-17 promotes angiogenesis and tumor growth', *Blood*, 101(7), pp. 2620–2627.

Ochoa, J. B. et al. (2001) 'Effects of L-arginine on the proliferation of T lymphocyte subpopulations', *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 25(1), pp. 23–29.

Ogryzko, V. V. et al. (1996) 'The transcriptional coactivators p300 and CBP are histone acetyltransferases', *Cell*, 87(5), pp. 953–959.

Ohno, M., Fornerod, M. and Mattaj, I. W. (1998) 'Nucleocytoplasmic transport: The last 200 nanometers', *Cell*, 92(3), pp. 327–336.

Oka, T. et al. (2002) 'Gene silencing of the tyrosine phosphatase SHP1 gene by aberrant methylation in leukemias/lymphomas', *Cancer Research*, 62(22), pp. 6390–6394.

Oku, S. et al. (2010) 'JAK2 V617F uses distinct signalling pathways to induce cell proliferation and neutrophil activation', *British Journal of Haematology*, 150(3), pp. 334–344.

Orimo, A. et al. (2005) 'Stromal fibroblasts present in invasive human breast carcinomas promote tumor growth and angiogenesis through elevated SDF-1/CXCL12 secretion', *Cell*, 121(3), pp. 335–348.

Palosaari, H. et al. (2003) 'STAT Protein Interference and Suppression of Cytokine Signal Transduction by Measles Virus V Protein', *Journal of Virology*, 77(13), pp. 7635–7644.

Park, C. et al. (2000) 'Immune response in Stat2 knockout mice', *Immunity*, 13(6), pp. 795–804.

Paul, S. R. et al. (1990) 'Molecular cloning of a cDNA encoding interleukin 11, a stromal cell-derived lymphopoietic and hematopoietic cytokine', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87(19), pp. 7512–7516.

Paulson, M. et al. (1999) 'Stat protein transactivation domains recruit p300/CBP through widely divergent sequences', *Journal of Biological Chemistry*, 274(36), pp. 25343–25349.

Pekarek, L. A. et al. (1995) 'Inhibition of Tumor Growth by Elimination of Granulocytes', *The Journal of experimental medicine*, 181, pp. 435–440.

Pennica, D. et al. (1995) 'Expression cloning of cardiotrophin 1, a cytokine that induces cardiac myocyte hypertrophy', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(4), pp. 1142–1146.

Percario, Z. et al. (2003) 'Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) Nef activates STAT3 in primary human monocyte/macrophages through the release of soluble factors: involvement of Nef domains interacting with the cell endocytotic machinery', *Journal of Leukocyte Biology*, 74(5), pp. 821–832.

Pflanz, S. et al. (2002) 'IL-27, a heterodimeric cytokine composed of EBI3 and p28 protein, induces proliferation of naive CD4⁺T cells', *Immunity*, 16(6), pp. 779–790.

Pikarsky, E. et al. (2004) 'NF- κ B functions as a tumour promoter in inflammation-associated cancer', *Nature*, 431(7007), pp. 461–466.

Pitot, H. C. and Dragan, Y. P. (1991) 'Facts and theories concerning the mechanisms of carcinogenesis', *The FASEB Journal*, 5(9), pp. 2280–2286.

Platonova, S. et al. (2011) 'Profound coordinated alterations of intratumoral NK cell phenotype and function in lung carcinoma', *Cancer Research*, 71(16), pp. 5412–5422.

Pranada, A. L. et al. (2004) 'Real Time Analysis of STAT3 Nucleocytoplasmic Shuttling*', *Journal of Biological Chemistry*, 279(15), pp. 15114–15123.

Punjabi, A. S. et al. (2007) 'Persistent Activation of STAT3 by Latent Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus Infection of Endothelial Cells', *Journal of Virology*, 81(5), pp. 2449–2458.

Rajendran, P., Ong, T. H., et al. (2011) 'Suppression of signal transducer and activator of transcription 3 activation by butein inhibits growth of human hepatocellular carcinoma in vivo', *Clinical Cancer Research*, 17(6), pp. 1425–1439.

Rajendran, P., Li, F., et al. (2011) 'γ-Tocotrienol is a novel inhibitor of constitutive and inducible STAT3 signalling pathway in human hepatocellular carcinoma: Potential role as an antiproliferative, pro-apoptotic and chemosensitizing agent', *British Journal of Pharmacology*, 163(2), pp. 283–298.

Rajendran, P. et al. (2012) 'Celastrol suppresses growth and induces apoptosis of human hepatocellular carcinoma through the modulation of STAT3/JAK2 signaling cascade In Vitro and In Vivo', *Cancer Prevention Research*, 5(4), pp. 631–643.

Rawlings, J. S., Rosler, K. M. and Harrison, D. A. (2004) 'The JAK/STAT signaling pathway', *Journal of Cell Science*, 117(8), pp. 1281–1283.

Ray, S., Boldogh, I. and Brasier, A. R. (2005) 'STAT3 NH₂-terminal acetylation is activated by the hepatic acute-phase response and required for IL-6 induction of angiotensinogen', *Gastroenterology*, 129(5), pp. 1616–1632.

Reitsma, J. M. et al. (2013) 'Human Cytomegalovirus IE1 Protein Disrupts Interleukin-6 Signaling by Sequestering STAT3 in the Nucleus', *Journal of Virology*, 87(19), pp. 10763–10776.

Richardson, S. et al. (2020) 'Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes among 5700 Patients Hospitalized with COVID-19 in the New York City Area', *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 323(20), pp. 2052–2059.

Rincón, B. M. et al. (1997) 'Interleukin (IL) -6 Directs the Differentiation of IL-4-producing CD4⁺ T Cells', *J Exp Med*, 185(3), pp. 461–469.

Rius, J. et al. (2008) 'NF- κ B links innate immunity to the hypoxic response through transcriptional regulation of HIF-1 α ', *Nature*, 453(7196), pp. 807–811.

- Santos, F. P. S. et al. (2010)** 'Phase 2 study of CEP-701, an orally available JAK2 inhibitor, in patients with primary or post-polycythemia vera/essential thrombocythemia myelofibrosis', *Blood*, 115(6), pp. 1131–1136.
- Sarcar, B. et al. (2004)** 'Hepatitis C virus NS5A mediated STAT3 activation requires co-operation of Jak1 kinase', *Virology*, 322(1), pp. 51–60.
- Schiechl, G. et al. (2011)** 'Tumor development in murine ulcerative colitis depends on MyD88 signaling of colonic F4/80+CD11b high Gr1 low macrophages', *Journal of Clinical Investigation*, 121(5), pp. 1692–1708.
- Schneller, D. et al. (2011)** 'p19ARF/p14ARF controls oncogenic functions of signal transducer and activator of transcription 3 in hepatocellular carcinoma', *Hepatology*, 54(1), pp. 164–172.
- Schust, J. et al. (2006)** 'Stattic: A Small-Molecule Inhibitor of STAT3 Activation and Dimerization', *Chemistry and Biology*, 13(11), pp. 1235–1242.
- Sen, M. et al. (2012)** 'First-in-human trial of a STAT3 decoy oligonucleotide in head and neck tumors: Implications for cancer therapy', *Cancer Discovery*, 2(8), pp. 694–705.
- Sethi, G. et al. (2014)** 'Inhibition of STAT3 dimerization and acetylation by garcinol suppresses the growth of human hepatocellular carcinoma in vitro and in vivo', *Molecular Cancer*, 13(1), pp. 1–14.
- Shain, K. H. et al. (2009)** 'β1 integrin adhesion enhances IL-6-mediated STAT3 signaling in myeloma cells: Implications for microenvironment influence on tumor survival and proliferation', *Cancer Research*, 69(3), pp. 1009–1015.
- Shi, J. et al. (2004)** 'The differential effects of IL-1 and TNF-α on proinflammatory cytokine and matrix metalloproteinase expression in human chondrosarcoma cells', *Inflammation Research*, 53(8), pp. 377–389.
- Shoukry, N. H. et al. (2003)** 'Memory CD8+ T cells are required for protection from persistent hepatitis C virus infection', *Journal of Experimental Medicine*, 197(12), pp. 1645–1655.
- Souissi, I. et al. (2011)** 'A STAT3-decoy oligonucleotide induces cell death in a human colorectal carcinoma cell line by blocking nuclear transfer of STAT3 and STAT3-bound NF-κB', *BMC Cell Biology*, 12(14), pp. 1–18.
- Spaeth, E. L. et al. (2009)** 'Mesenchymal stem cell transition to tumor-associated fibroblasts contributes to fibrovascular network expansion and tumor progression', *PLoS ONE*, 4(4).
- Starr, R. et al. (1999)** 'A family of cytokine-inducible inhibitors of signalling', *Letters to Nature*, 387, pp. 917–921.
- Steinbach, A., Clark, S. M. and Clemmons, A. B. (2013)** 'Bosutinib: A Novel Src/Abl Kinase Inhibitor for Chronic Myelogenous Leukemia', *J Adv Pract Oncol.*, 4(6), pp. 451–455.
- Summy, J. M. and Gallick, G. E. (2003)** 'Src family kinases in tumor progression and metastasis', *Cancer and Metastasis Reviews*, 22(4), pp. 337–358.
- Tacke, R. S. et al. (2011)** 'Extracellular hepatitis C virus core protein activates STAT3 in human monocytes/macrophages/dendritic cells via an IL-6 autocrine pathway', *Journal of Biological Chemistry*, 286(12), pp. 10847–10855.
- Tacke, R. S. et al. (2012)** 'Myeloid suppressor cells induced by hepatitis C virus suppress T-cell responses through the production of reactive oxygen species', *Hepatology*, 55(2), pp. 343–353.
- Taga, T. et al. (1989)** 'Interleukin-6 triggers the association of its receptor with a possible signal transducer, gp130', *Cell*, 58(3), pp. 573–581.
- Takeda, K. et al. (1997)** 'Targeted disruption of the mouse Stat3 gene leads to early embryonic lethality', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(8), pp. 3801–3804.
- *Takeda, K. and Akira, S. (2000)** 'STAT family of transcription factors in cytokine-mediated biological responses', *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 11(3), pp. 199–207.
- Tannock, I. F. and Rotin, D. (1989)** 'Acid pH in Tumors and Its Potential for Therapeutic Exploitation', *Cancer Research*, 49(16), pp. 4373–4384.
- Teglund, S. et al. (1998)** 'Stat5a and Stat5b proteins have essential and nonessential, or redundant, roles in cytokine responses', *Cell*, 93(5), pp. 841–850.
- Terzić, J. et al. (2010)** 'Inflammation and Colon Cancer', *Gastroenterology*, 138(6), pp. 2101–2114.

Thierfelder, W. E. et al. (1996) 'Requirement for Stat4 in interleukin-12-mediated responses of natural killer and T cells', *Nature*, pp. 171–174.

Timofeeva, O. A. et al. (2012) 'Mechanisms of unphosphorylated STAT3 transcription factor binding to DNA', *Journal of Biological Chemistry*, 287(17), pp. 14192–14200.

Timofeeva, O. A. et al. (2013) 'STAT3 suppresses transcription of proapoptotic genes in cancer cells with the involvement of its N-terminal domain', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(4), pp. 1267–1272.

Tischoff et al. (2007) 'Methylation of SOCS-3 and SOCS-1 in the carcinogenesis of Barrett's adenocarcinoma', *Gut*, 56(8), pp. 1047–1053.

Toschi, V. et al. (1997) 'Tissue factor modulates the thrombogenicity of human atherosclerotic plaques', *Circulation*, 95(3), pp. 594–599.

Turkson, J. et al. (1999) 'Requirement for Ras/Rac1-Mediated p38 and c-Jun N-Terminal Kinase Signaling in Stat3 Transcriptional Activity Induced by the Src Oncoprotein', *Molecular and Cellular Biology*, 19(11), pp. 7519–7528.

Turkson, J. et al. (2001) 'Phosphotyrosyl Peptides Block Stat3-mediated DNA Binding Activity, Gene Regulation, and Cell Transformation', *Journal of Biological Chemistry*, 276(48), pp. 45443–45455.

Turkson, J. et al. (2004) 'Novel peptidomimetic inhibitors of signal transducer and activator of transcription 3 dimerization and biological activity', *Molecular Cancer Therapeutics*, 3(3), pp. 261–269.

Turkson, J. et al. (2005) 'A novel platinum compound inhibits constitutive Stat3 signaling and induces cell cycle arrest and apoptosis of malignant cells', *Journal of Biological Chemistry*, 280(38), pp. 32979–32988.

Ulane, C. M. et al. (2003) 'STAT3 Ubiquitylation and Degradation by Mumps Virus Suppress Cytokine and Oncogene Signaling', *Journal of Virology*, 77(11), pp. 6385–6393.

Ushijima, R. et al. (2005) 'Extracellular signal-dependent nuclear import of STAT3 is mediated by various importin α s', *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 330(3), pp. 880–886.

Varinou, L. et al. (2005) 'Phosphorylation of the STAT1 transactivation domain is required for full-fledged IFN-gamma-dependent innate immunity', *Epitheorese Klinikes Farmakologias kai Farmakokinetikes*, 23(1), pp. 36–37.

Velazquez-Salinas, L. et al. (2019) 'The role of interleukin 6 during viral infections', *Frontiers in Microbiology*, 10(1057), pp. 1–6.

Verstovsek, S. et al. (2012) 'Long-term outcomes of 107 patients with myelofibrosis receiving JAK1/JAK2 inhibitor ruxolitinib: Survival advantage in comparison to matched historical controls', *Blood*, 120(6), pp. 1202–1209.

Verstovsek, S. et al. (2015) 'A phase I, open-label, multi-center study of the JAK2 inhibitor AZD1480 in patients with myelofibrosis', *Leukemia Research*, 39(2), pp. 157–163.

Vignais, M. L. et al. (1996) 'Platelet-derived growth factor induces phosphorylation of multiple JAK family kinases and STAT proteins', *Molecular and Cellular Biology*, 16(4), pp. 1759–1769.

Vlotides, G. et al. (2004) 'Novel neurotrophin-1/B cell-stimulating factor-3 (NNT-1/BSF-3) / cardiotrophin-like cytokine (CLC) - A novel gp130 cytokine with pleiotropic functions', *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 15(5), pp. 325–336.

Waitkus, M. S. et al. (2014) 'Signal Integration and Gene Induction by a Functionally Distinct STAT3 Phosphoform', *Molecular and Cellular Biology*, 34(10), pp. 1800–1811.

Wang, H. et al. (2011) 'Hepatoprotective versus oncogenic functions of STAT3 in liver tumorigenesis', *American Journal of Pathology*, 179(2), pp. 714–724.

Wang, R., Cherukuri, P. and Luo, J. (2005) 'Activation of Stat3 sequence-specific DNA binding and transcription by p300/CREB-binding protein-mediated acetylation', *Journal of Biological Chemistry*, 280(12), pp. 11528–11534.

***Wang, S. W. and Sun, Y. M. (2014)** 'The IL-6/JAK/STAT3 pathway: Potential therapeutic strategies in treating colorectal cancer (Review)', *International Journal of Oncology*, 44(4), pp. 1032–1040.

Wang, T. et al. (2004) 'Regulation of the innate and adaptive immune responses by Stat-3 signaling in tumor cells', *Nature Medicine*, 10(1), pp. 48–54.

Wang, X. et al. (2016) 'A novel IL-23p19/Ebi3 (IL-39) cytokine mediates inflammation in Lupus-like mice', *European Journal of Immunology*, 46(6), pp. 1343–1350.

Wang, Z. et al. (2010) 'STAT3 activation induced by Epstein-Barr virus latent membrane protein1 causes vascular endothelial growth factor expression and cellular invasiveness via JAK3 and ERK signaling', *European Journal of Cancer*, 46(16), pp. 2996–3006.

Waris, G., Huh, K.-W. and Siddiqui, A. (2001) 'Mitochondrially Associated Hepatitis B Virus X Protein Constitutively Activates Transcription Factors STAT-3 and NF- κ B via Oxidative Stress', *Molecular and Cellular Biology*, 21(22), pp. 7721–7730.

Waris, G. and Siddiqui, A. (2002) 'Interaction between STAT-3 and HNF-3 Leads to the Activation of Liver-Specific Hepatitis B Virus Enhancer 1 Function', *Journal of Virology*, 76(6), pp. 2721–2729.

Warren, R. S. et al. (1995) 'Regulation by vascular endothelial growth factor of human colon cancer tumorigenesis in a mouse model of experimental liver metastasis', *Journal of Clinical Investigation*, 95(4), pp. 1789–1797.

Wathelet, M. G. et al. (2007) 'Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Evades Antiviral Signaling: Role of nsp1 and Rational Design of an Attenuated Strain', *Journal of Virology*, 81(21), pp. 11620–11633.

Weber, A. et al. (2012) 'Inhibition of Stat3 by peptide aptamer rS3-PA enhances growth suppressive effects of irinotecan on colorectal cancer cells', *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, 10(2), pp. 273–279.

Wegenka, U. M. et al. (1994) 'The interleukin-6-activated acute-phase response factor is antigenically and functionally related to members of the signal transducer and activator of transcription (STAT) family.', *Molecular and Cellular Biology*, 14(5), pp. 3186–3196.

Wegrzyn, J. et al. (2009) 'Function of mitochondrial Stat3 in cellular respiration', *Science*, 323(5915), pp. 793–797.

Wei, D. et al. (2003) 'Stat3 activation regulates the expression of vascular endothelial growth factor and human pancreatic cancer angiogenesis and metastasis', *Oncogene*, 22(3), pp. 319–329.

Wen, Z., Zhong, Z. and Darnell, J. E. (1995) 'Maximal activation of transcription by stat1 and stat3 requires both tyrosine and serine phosphorylation', *Cell*, 82(2), pp. 241–250.

Wong, A. L. et al. (2015) 'Phase I and biomarker study of OPB-51602, a novel signal transducer and activator of transcription (STAT) 3 inhibitor, in patients with refractory solid malignancies', *Annals of Oncology*, 26(5), pp. 998–1005.

Wong, M. and Fish, E. N. (1998) 'RANTES and MIP-1 α activate Stats in T cells', *Journal of Biological Chemistry*, 273(1), pp. 309–314.

Woo, E. Y. et al. (2001) 'Regulatory CD4+CD25+ T cells in tumors from patients with early-stage non-small cell lung cancer and late-stage ovarian cancer', *Cancer Research*, 61(12), pp. 4766–4772.

Wu, W. et al. (2013) 'MicroRNA-18a modulates STAT3 activity through negative regulation of PIAS3 during gastric adenocarcinogenesis', *British Journal of Cancer*, 108(3), pp. 653–661.

Xi, S. et al. (2003) 'Constitutive Activation of Stat5b Contributes to Carcinogenesis in Vivo', *Cancer Research*, 63(20), pp. 6763–6771.

Xiong, Q. et al. (2017) 'Hepatitis B virus promotes cancer cell migration by downregulating miR-340-5p expression to induce STAT3 overexpression', *Cell and Bioscience*, 7(1), pp. 1–10.

Xiong, Y., Zhang, C., et al. (2015) 'Hepatitis C virus represses the cellular antiviral response by upregulating the expression of signal transducer and activator of transcription 3 through sponging microRNA-122', *Molecular Medicine Reports*, 11(3), pp. 1733–1737.

Xiong, Y., Jia, M., et al. (2015) 'STAT3-regulated long non-coding RNAs lnc-7SK and lnc-IGF2-AS promote hepatitis C virus replication', *Molecular Medicine Reports*, 12(5), pp. 6738–6744.

Xu, Y. et al. (2013) 'Epstein-Barr Virus encoded LMP1 regulates cyclin D1 promoter activity by nuclear EGFR and STAT3 in CNE1 cells', *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, 32(1), pp. 1–13.

Yamamoto, T. et al. (2002) 'The nuclear isoform of protein-tyrosine phosphatase TC-PTP regulates interleukin-6-mediated signaling pathway through STAT3 dephosphorylation', *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 297(4), pp. 811–817.

- Yan, S., Li, Z. and Thiele, C. J. (2013)** 'Inhibition of STAT3 with orally active JAK inhibitor, AZD1480, decreases tumor growth in neuroblastoma and pediatric sarcomas in vitro and in vivo', *Oncotarget*, 4(3), pp. 433–445.
- Yang, J. et al. (2010)** 'Reversible methylation of promoter-bound STAT3 by histone-modifying enzymes', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(50), pp. 21499–21504.
- Yoshida, T. et al. (2002)** 'Activation of STAT3 by the hepatitis C virus core protein leads to cellular transformation', *Journal of Experimental Medicine*, 196(5), pp. 641–653.
- You, M., Yu, D.-H. and Feng, G.-S. (1999)** 'Shp-2 Tyrosine Phosphatase Functions as a Negative Regulator of the Interferon-Stimulated Jak/STAT Pathway', *Molecular and Cellular Biology*, 19(3), pp. 2416–2424.
- Youn, J.-I. et al. (2008)** 'Subsets of Myeloid-Derived Suppressor Cells in Tumor-Bearing Mice', *The Journal of Immunology*, 181(8), pp. 5791–5802.
- Yu, C. L. et al. (1995)** 'Enhanced DNA-binding activity of a stat3-related protein in cells transformed by the Src oncoprotein', *Science*, 269(5220), pp. 81–83.
- Yu, C. R. et al. (2013)** 'STAT3 regulates proliferation and survival of CD8+ T cells: Enhances effector responses to HSV-1 infection, and inhibits IL-10+ regulatory CD8+ T Cells in Autoimmune Uveitis', *Mediators of Inflammation*, 2013, pp. 1–10.
- Yu, Z. and Kone, B. C. (2004)** 'The STAT3 DNA-Binding Domain Mediates Interaction with NF- κ B p65 and Inducible Nitric Oxide Synthase Transrepression in Mesangial Cells', *Journal of the American Society of Nephrology*, 15(3), pp. 585–591.
- Yue, C. et al. (2015)** 'Host STAT2/type I interferon axis controls tumor growth', *International Journal of Cancer*, 136(1), pp. 117–126.
- Yuen, C. K. et al. (2020)** 'SARS-CoV-2 nsp13, nsp14, nsp15 and orf6 function as potent interferon antagonists', *Emerging Microbes and Infections*, 9(1), pp. 1418–1428.
- Zhai, N. et al. (2017)** 'Hepatitis C virus induces MDSCs-like monocytes through TLR2/PI3K/AKT/STAT3 signaling', *PLoS ONE*, 12(1), pp. 1–19.
- Zhang, D. et al. (1996)** 'STAT3 participates in transcriptional activation of the C-reactive protein gene by interleukin-6', *Journal of Biological Chemistry*, 271(16), pp. 9503–9509.
- Zhang, J. J. et al. (1998)** 'Ser727-dependent recruitment of MCM5 by Stat1 α in IFN- γ -induced transcriptional activation', *EMBO Journal*, 17(23), pp. 6963–6971.
- Zhang, J. P. et al. (2009)** 'Increased intratumoral IL-17-producing cells correlate with poor survival in hepatocellular carcinoma patients', *Journal of Hepatology*, 50(5), pp. 980–989.
- Zhang, X. et al. (2013)** 'A novel inhibitor of STAT3 homodimerization selectively suppresses STAT3 activity and malignant transformation', *Cancer Research*, 73(6), pp. 1922–1933.
- Zhang, X. and Darnell, J. E. (2001)** 'Functional Importance of Stat3 Tetramerization in Activation of the α 2-Macroglobulin Gene', *Journal of Biological Chemistry*, pp. 33576–33581.
- Zhao, Y. et al. (2013)** 'A new role for STAT3 as a regulator of chromatin topology', *Transcription*.
- Zhong, Z., Wen, Z. and Darnell, J. E. (1994)** 'Stat3: A STAT family member activated by tyrosine phosphorylation in response to epidermal growth factor and interleukin-6', *Science*, 264(5155), pp. 95–98.
- Zhou, J. J. et al. (2014)** 'Hepatitis C virus core protein regulates NANOG expression via the stat3 pathway', *FEBS Letters*, 588(4), pp. 566–573.
- Zilberstein, A. et al. (1986)** 'Structure and expression of cDNA and genes for human interferon-beta-2, a distinct species inducible by growth-stimulatory cytokines', *The EMBO journal*, 5(10), pp. 2529–2537.
- *Zou, S. et al. (2020)** 'Targeting stat3 in cancer immunotherapy', *Molecular Cancer*, 19(1), pp. 1–19. (review označené *)